

Toulouse 1975

LA CELLULE DE PANETH

ÉTUDE HISTOLOGIQUE ET HISTOPHYSIOLOGIQUE

THÈSE

présentée et soutenue le 7 février 1975 devant la Commission d'Examen

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

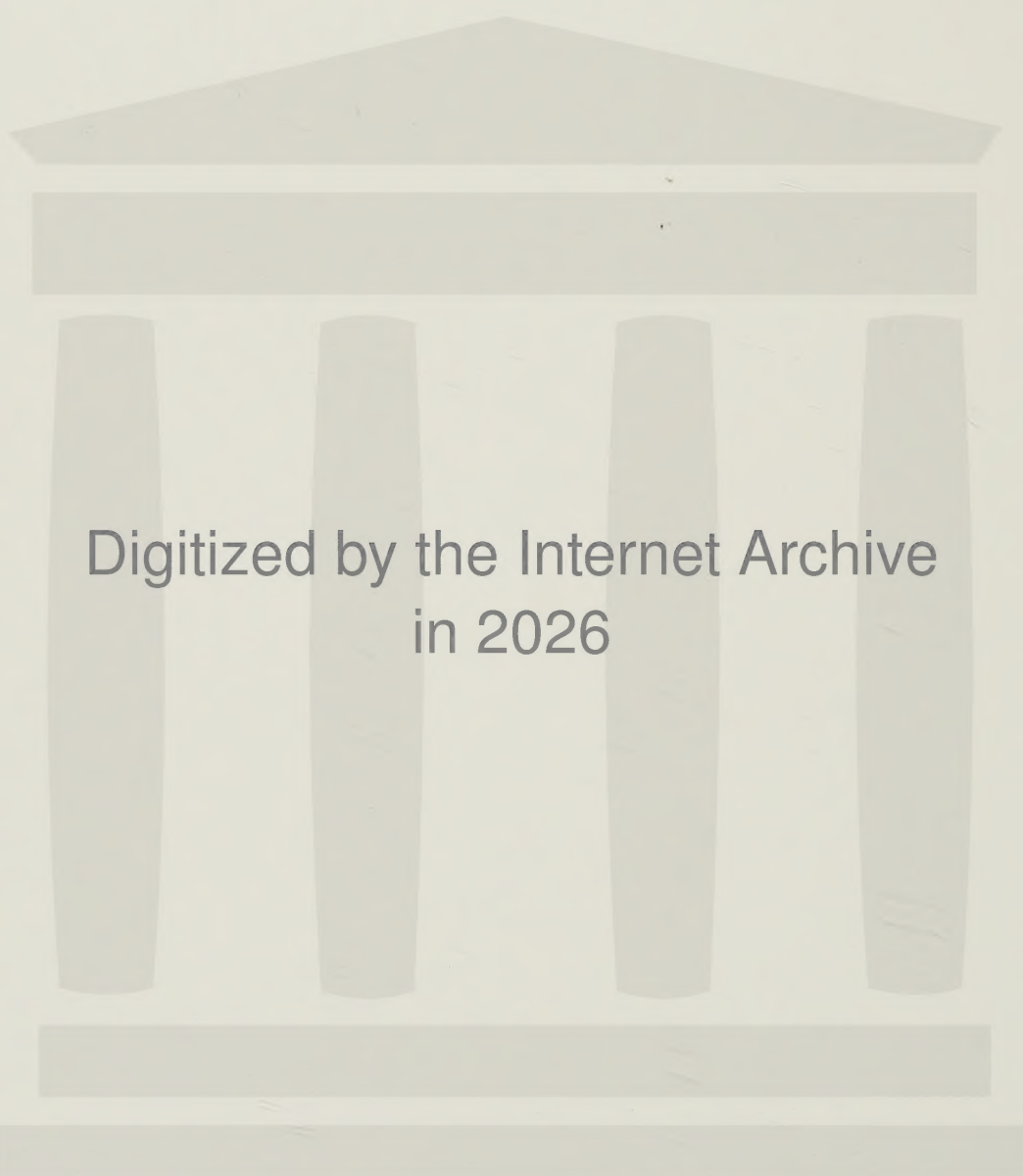
Daniel BALAS

MEMBRES DU JURY

MM. J. BROUSSY Président

A. SERFATY
P. RAYNAUD
J.-J. BERNIER
H. PLANEL
A. RIBET

} Examineurs



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546613_0009

LA CELLULE DE PANETH

ETUDE HISTOLOGIQUE ET HISTOPHYSIOLOGIQUE

La plupart des travaux présentés dans ce mémoire ont pu être réalisés grâce aux subventions allouées par le Conseil Scientifique de l'UER de Sciences Médicales PURPAN.

LA CELLULE DE PANETH
ETUDE HISTOLOGIQUE ET HISTOPHYSIOLOGIQUE

LA CELLULE DE PANETH

ÉTUDE HISTOLOGIQUE ET HISTOPHYSIOLOGIQUE

THÈSE

présentée et soutenue le 7 février 1975 devant la Commission d'Examen

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

par

Daniel BALAS

MEMBRES DU JURY

MM. J. BROUSSY Président

A. SERFATY
P. RAYNAUD
J.-J. BERNIER
H. PLANEL
A. RIBET

} Examineurs

LA CELLULE DE PANETH

ÉTUDE HISTOLOGIQUE
ET HISTOPATHOLOGIQUE

THÈSE

Présentée à l'Université de Toulouse

par M. L. L. L.



1900

1900

1900

SOMMAIRE

CHAPITRE I	Pages
Introduction	3
Rappel de nos connaissances actuelles	5
Limites du travail personnel	15
CHAPITRE II : MATERIEL ET TECHNIQUES	19
CHAPITRE III : ETUDE HISTOLOGIQUE DE LA CELLULE DE PANETH	
A - Etude morphologique en microscopie optique de la cellule de Paneth chez différentes espèces animales	33
B - Etude ultrastructurale de la cellule de Paneth chez le Hamster	53
C - Etude histochimique comparative de la cellule de Paneth chez le Hamster, le Rat et la Souris	71
D - Différenciation de la cellule de Paneth	79
CHAPITRE IV : ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA CELLULE DE PANETH AU COURS DES EPISODES DIGESTIFS	
A - Variations morphologiques des cellules de Paneth au cours de la réalimentation	85
B - Le mécanisme d'exocytose des grains de zymogène	95
C - Etude des mécanismes de régulation de la sécrétion des cellules de Paneth au cours de la digestion	101
D - Etude des facteurs alimentaires provoquant la sécrétion des cellules de Paneth	111
E - Action d'extraits duodénaux non purifiés sur la sécrétion des cellules de Paneth	119
F - Action des hormones gastro-duodénales purifiées sur la sécrétion des cellules de Paneth	127
G - Influence des sécrétions biliaire et pancréatique sur la cellule de Paneth	143
H - Effets de la ligature des canaux pancréatiques sur les cellules de Paneth du jéjunum de Hamster	155
I - Contrôle nerveux de la sécrétion des cellules de Paneth	165
CHAPITRE V : ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA CELLULE DE PANETH : REGULATION NEURO ENDOCRINIENNE EN DEHORS DES 2PI-SODES DIGESTIFS	
- Rôle des glandes surrénales	173
- Rôle des gonades	182
- Rôle de la glande thyroïde	183
- Rôle de l'hypophyse	185
- Rythme nycthéméral et saisonnier	187

CHAPITRE VI : ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA CELLULE DE PANETH : NATURE ET ROLE DU PRODUIT DE SECRETION	197
CHAPITRE VII : CONCLUSIONS	213
CHAPITRE VIII : BIBLIOGRAPHIE	223

Nous voudrions remercier ceux qui ont accepté de juger cette thèse.

C'est tout d'abord à mon maître, le Professeur F. BROUSSY que j'adresse ma sincère reconnaissance. Dès 1966, il nous adoptait dans son laboratoire et inspira le sujet qui représente actuellement notre activité principale de recherches. Nous reconnaissons, à notre défaveur, les réticences que nous avons manifesté pour entreprendre l'étude des cellules de Paneth... C'est donc pour nous une grande joie de lui présenter ce travail dans lequel il nous a toujours guidé avec clarté et bienveillance. Nous souhaiterions que cette thèse soit la récompense de la confiance qu'il a bien voulu nous témoigner. Nous voudrions également le remercier pour toute l'aide morale et humaine si souvent prodiguée.

Monsieur le Professeur SERFATY a accepté de suivre et diriger nos recherches. Ses conseils, aussi bien amicaux que scientifiques, nous ont enclin à persévérer. Nous voudrions plus particulièrement le remercier de nous avoir guidé dans les rapports de la cellule de Paneth avec l'endocrinologie générale.

Plus récemment Monsieur le Professeur RIBÉT nous accepta dans son Service. Il a mis à notre disposition les moyens importants dont il dispose, nous donnant ainsi la possibilité de poursuivre notre activité. Nous voudrions le remercier de la confiance qu'il nous porte. Ses compétences, ses qualités de Chef de Service permettent de stimuler un esprit d'équipe multidisciplinaire nécessaire à la poursuite de cette étude. Pionnier de l'ultrastructure du pancréas exocrine, nous lui demandons de juger un travail sur la cellule de Paneth, élément dont la parenté histophysiologique avec la cellule acineuse pancréatique

semble étroite.

Monsieur le Professeur BERNIER a également accepté d'analyser nos recherches sur la cellule de Paneth. Ses hautes compétences en physiologie digestive, ses connaissances étendues à de vastes domaines, son esprit de rigueur nous apporteront, à travers ses critiques, des éléments nous permettant de nuancer nos futures expérimentations, contribuant ainsi à des orientations nouvelles.

Monsieur le Professeur PLANEL nous a, par la clarté de ses cours, alors que nous étions encore au tout début de nos études médicales, donné le goût de la discipline histologique. Nous tenons à le remercier pour les conseils et l'aide qu'il nous a souvent apportés.

Alors que nous abordions l'étude de la cellule de Paneth, Monsieur le Professeur RAYNAUD, au travers de son enseignement, nous a permis d'approfondir nos connaissances en physiologie digestive.

Nous voudrions également remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de notre travail :

- Le personnel technique et tout particulièrement Mesdames FAURE et PRATZ, Messieurs CAYRAC, PENON, PERALTA et PRATZ.
- Tous ceux qui ont collaboré à ces recherches, Mesdames BASTIE et LAVAL, Mademoiselle SENEGAS, Messieurs F. BROUSSY, FREXINOS, MIROUZE et PRADAYROL.
- Tous mes amis du Service de Gastroentérologie et du Groupe de Recherches de Pathologie Digestive.
- Tous mes camarades des Laboratoires et Services de l'Université.

Enfin c'est aux Miens et à tous mes Amis que je dédie cette thèse.

CHAPITRE I

- INTRODUCTION
- RAPPEL DE NOS CONNAISSANCES ACTUELLES
- LIMITES DU TRAVAIL PERSONNEL

INTRODUCTION

En 1872, Schwalbe décrivit le premier, dans le fond des glandes de Lieberkühn de l'intestin grêle du Rat, quelques éléments cellulaires possédant à leur pôle apical des granules réfringents.

En 1887, Paneth réalisa, chez la Souris, la première étude fondamentale de cet élément cellulaire. Il décrivit les granulations apicales et envisagea la présence d'un ergastoplasme basal bien développé. Il entrevit la possibilité d'un rôle fonctionnel joué par cette cellule dans les processus digestifs, la charge granulaire augmentant après un jeûne de 24 heures.

En fait, durant la première moitié de ce siècle, la cellule de Paneth ne donna lieu qu'à la réalisation de travaux sporadiques. Ce n'est que tout récemment que nos connaissances sur cet élément se sont plus amplement précisées, en particulier depuis les premières études ultrastructurales entreprises en 1958 par Hally.

Toutefois, bien que la cellule de Paneth, soit probablement à l'origine d'un certain nombre d'enzymes déversées dans le suc intestinal, la nature précise de sa sécrétion ne nous est pas encore bien connue. Son mécanisme de régulation sécrétoire n'a fait l'objet d'aucune étude histophysiologique. La participation éventuelle de la cellule de Paneth dans diverses manifestations digestives pathologiques est également incertaine.

RAPPEL DE NOS CONNAISSANCES ACTUELLES

MORPHOLOGIE

Les cellules de Paneth apparaissent régulièrement disposées au fond des glandes de Lieberkühn de l'intestin grêle. Chez l'Homme, elles sont très abondantes dans le jéjunum et l'iléon mais moins nombreuses au niveau du duodénum. TONER (1968) a estimé leur nombre total au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle à 200.000.000. Les cellules de Paneth sont strictement situées dans la partie profonde de la muqueuse où elles délimitent par groupe de 5 à 6, les culs de sac glandulaires des cryptes intestinales. Il est exceptionnel d'observer des cellules de Paneth haut situées dans la glande de Lieberkühn ou sur les villosités (DESCHNER 1967, CHENG et Coll. 1969, TROUGHTON et TRIER 1969). Par contre, il est possible de rencontrer ce type cellulaire au niveau du colon (jusqu'au rectum), dans l'appendice ; la présence de cet élément au niveau de la muqueuse gastrique semble représenter une hétérotopie (LAUREN 1961, TONER 1968, OTTO et FETT 1972).

Les cellules de Paneth ont été retrouvées chez un grand nombre d'espèces animales. Elles existent chez la plupart des Mammifères et en particulier chez la Souris, le Rat, le Cobaye, le Lapin, le Mouton, la Chèvre, le Cheval, le Tamanoir et les Marsupiaux (DE CASTRO 1952, TAYLOR et FLAA 1964, PITHA 1968).

Fait surprenant, les Carnivores ne possèdent pas de cellules de Paneth (c'est du moins le cas du Chien et du Chat) ; les cellules de Paneth

sont également absentes chez les Oiseaux (TAYLOR et FLAA 1964).

Par contre, on retrouverait cet élément chez d'autres Vertébrés : Tortues, Lézards, Urodèles, Poissons (SCHAAF et WENGEL 1970, FRASCHINI 1967).

La cellule de Paneth, pyramidale haute, ou cylindrique, possède un noyau ovale ou arrondi proche du pôle basal. Le cytoplasme est fortement basophile. L'élément le plus remarquable de cette cellule est représenté par les granules sécrétoires apexiens. Il s'agit de grains de zymogène, nombreux, arrondis, généralement volumineux, très réfringents. Ils ont une forte affinité tinctoriale pour les colorants acides et en particulier pour l'éosine, l'orange G, la fuchsine acide.

C'est ainsi que les techniques de Mallory ou de Mann-Dominici visualisent particulièrement bien la cellule de Paneth. La laque d'hématoxyline ferrique représente également une bonne technique pour colorer les grains de sécrétion de cet élément cellulaire.

En utilisant un très fort grossissement, un halo achromatique peut être mis en évidence autour de chaque grain (BROUSSY et BARRY 1943, DALTON 1951). Ce halo, plus ou moins important selon les espèces, est inexistant chez l'Homme.

HISTOCHIMIE

Le cytoplasme des cellules de Paneth peut être coloré par le P.A.S., le bleu Alcian, le bleu de Toluidine, le mucicarmin, l'hématoxyline ferrique, le carmin de Best, le noir Naphtol, la thioflavine T (TAYLOR et FLAA 1964, BURNS et WHITEHEAD 1966, LAUREN et Coll 1967, MERZEL 1967, BOWER et CHADWIN 1968).

Mais c'est l'étude du granule sécrétoire qui a fait l'objet des plus nombreux travaux (HALLY 1958, KUROSUMI 1961, SELZMAN et LIEBELT 1961-1962, TAYLOR et FLAA 1964, GEYER et LINSS 1965, STANLEY et TRIER 1965, GEYER 1966, RIECKEN et PEARSE 1966, LAUMONIER et METAYER 1967, MERZEL 1967). Les résultats obtenus sont peu différents suivant les espèces observées. Le contenu du grain sécrétoire de la cellule de Paneth est caractérisé par la présence

d'une protéine à caractère électropolaire fortement basique. Il s'agit d'une muco ou d'une glycoprotéine. Le centre protéique est entouré par une capsule mucopolysaccharidique dont la taille est variable selon les espèces : très importante chez la Souris et le Rat, elle est presque inexistante chez l'Homme. La protéine constituant le produit zymogénique est riche en arginine, tyrosine, histidine, en groupes carboxyliques libres, en groupes sulfhydriles et disulfures ; du zinc est associé à la protéine (BEHNKE et MOE 1964, MERZEL 1967, LAUMONIER et METAYER 1967).

HISTOENZYMOLOGIE

L'histoenzymologie de la cellule de Paneth n'a pratiquement pas été abordée.

En 1959, DE CASTRO suppose, sans preuve formelle, que la cellule de Paneth sécrète une chitinase chez le Tamanoir.

La sécrétion d'une peptidase est envisagée par VAN GENDEREN et ENGEL (1938) et KUROSUMI (1961). Mais cette activité n'a pas été retrouvée depuis par d'autres auteurs (LEWIN 1969).

Les granules contiennent également des enzymes hydrolasiques lysosomiales, une glucose-6-phosphatase, l'anhydrase carbonique, une monoamine oxydase (RIECKEN et PEARSE 1966).

Pour DECKX et Coll (1967), GHOSH et VANTRAPPEN (1971), la cellule de Paneth serait responsable de la sécrétion du lysozyme intestinal. La confirmation de la présence d'une activité de type lysozyme au niveau du grain de zymogène de la cellule de Paneth vient, tout récemment, d'être apportée par PEETERS et VANTRAPPEN (1974) grâce aux techniques d'immunofluorescence. Ce point semble d'une importance primordiale puisqu'il suggère un rôle majeur joué par la cellule de Paneth dans les défenses anti-bactériennes de l'intestin grêle.

La nature des grains sécrétoires des cellules de Paneth est donc encore mal élucidée. Toutefois, la plupart des auteurs sont d'accord pour considérer que la cellule de Paneth, étant de nature séreuse, sécrèterait de nombreuses enzymes intervenant dans les mécanismes de la digestion intestinale.

ULTRASTRUCTURE

Les premières descriptions en microscopie électronique datent de 1958. Les travaux les plus complets ont été réalisés chez la Souris et le Rat (HALLY 1958, KUROSUMI 1961, SELZMAN et LIEBELT 1962, BEHNKE et MOE 1967, TRIER et Coll 1967). PITHA (1968) a particulièrement bien étudié la cellule de Paneth chez le Lapin. Chez l'Homme les études étaient jusqu'à ce jour très fragmentaires (LAUMONIER et METAYER 1967).

Suivant les espèces, les grains de sécrétion, arrondis, mesurent de 0,75 à 1,5 μ . Osmiophiles, les grains sont inclus dans une vacuole de 1 à 2 μ de diamètre limitée par une membrane plasmique simple. Le grain est séparé de la membrane vacuolaire par un halo transparent, variable en taille selon la technique de fixation utilisée ; ce halo pourrait donc correspondre à un artefact. La membrane cellulaire possède au pôle apical quelques microvillosités. Le noyau est irrégulier, présentant souvent des invaginations de la membrane nucléaire ; les images nucléolaires sont fréquentes ; l'hétérochromatine est dense. Le hyaloplasme est occupé par de nombreux organites cellulaires. Le réticulum granulaire, très abondant et orienté, disposé concentriquement autour du noyau, est particulièrement développé au pôle basal de la cellule. L'appareil de Golgi, supra-nucléaire, volumineux, est constitué par des sacs et des vésicules qui donnent naissance aux grains de zymogène. Le chondriome, relativement pauvre, prédomine au pôle basal. Il existe de nombreuses formations lysosomiales : quelques lysosomes primaires, et fréquemment des lysosomes secondaires du type hétéro ou auto-phagique (avec images myéliniques). L'appareil de Golgi sécrète également des granules denses de petite taille qui viennent s'insérer entre les volumineux grains de zymogène apexiens.

Les recherches ultrastructurales et autoradiographiques ont permis d'analyser le mécanisme intracellulaire de synthèse des grains de zymogène (HALLY 1958), BEHNKE et MOE (1963), TRIER (1963), TRIER et Coll (1967), HALBHÜBER (1972). L'espace périnucléaire et les sacs ergastoplasmiques contiennent un matériel protéique modérément dense qui peut parfois se concentrer et précipiter sous forme cristalline. Le matériel protéique ergastoplasmique est ensuite transmis aux dictyosomes golgiens périphériques. Les citernes golgiennes centrales, concentrant le matériel protéique, sont à l'origine de la formation des grains de zymogène dont la maturation s'achève au fur et à mesure qu'ils

se rapprochent de l'apex cellulaire. Ainsi la formation des grains de zymogène des cellules de Paneth semble similaire à celle observée sur d'autres cellules séreuses, en particulier la cellule acineuse pancréatique.

Le mode de sécrétion et d'exocytose de la cellule de Paneth n'est pas actuellement parfaitement connu. TRIER (1963) envisagerait un mode de sécrétion apocrine ; phénomène surprenant pour une cellule de type séreux.

ORIGINE ET DIFFERENCIATION

L'origine, la différenciation, le devenir de la cellule de Paneth n'ont été que très peu envisagés jusqu'en 1964.

On sait qu'elle apparaît, chez le foetus humain, au septième mois de la vie intra-utérine ; en fait, à partir du 145ème jour (Wheeler 1964), c'est-à-dire à un stade où la différenciation du tube digestif et de ses annexes est déjà avancée. Au contraire, chez la Souris, les cellules de Paneth n'apparaissent qu'après la naissance, à la fin de la première semaine (MERZEL 1967, SPERSCHNEIDER et Coll 1972) ; chez le Rat, elles apparaissent au quinzième jour après la naissance (TONER 1968). Les cellules de Paneth nouvellement formées possèdent des granules de plus petite taille (SELZMAN et LIEBELT 1962).

La cellule de Paneth représente-t-elle une population isolée dans l'intestin ou bien dérive-t-elle des cellules indifférenciées de la glande de Lieberkühn ? La cellule de Paneth est-elle capable de se diviser étant donné son haut degré de différenciation ?

La plupart des auteurs estiment actuellement que la cellule de Paneth ne peut entrer en mitose (DESCHNER 1967, CHENG et Coll 1969, TROUGHTON et TRIER 1969, BROWING et TRIER 1969). Les études réalisées par autoradiographie montrent que la durée de vie de cette cellule est longue, de l'ordre de 3 semaines à un mois (TROUGHTON et TRIER 1969, CHENG et Coll 1969). La cellule de Paneth comme la cellule caliciforme dériverait d'une cellule indifférenciée. En effet, CHENG et Coll (1969), SPERSCHNEIDER et Coll (1972), TROUGHTON et TRIER ont pu mettre en évidence des étapes morphologiques transitoires entre une cellule indifférenciée et les cellules de Paneth mûres.

Les cellules de Paneth semblent donc représenter une population isolée et différente des autres cellules de recouvrement de l'épithélium intestinal ; en particulier des cellules caliciformes et des entérocytes dont la durée de vie n'excède pas 3 jours.

HISTOPHYSIOLOGIE

Nos connaissances sur l'histophysiologie de la cellule de Paneth sont encore très rudimentaires.

En effet, ni les mécanismes extra-cellulaires responsables de la décharge des grains ou de leur élaboration, ni la signification fonctionnelle de la sécrétion ne sont définitivement connus.

Néanmoins, plusieurs facteurs semblent intervenir dans les processus de sécrétion zymogénique.

Le rôle de l'alimentation n'est pas discutable : PANETH (1888) et KLEIN (1906) avaient déjà montré qu'après un jeûne de 24 heures les cellules de Paneth deviennent claires et étroites, les grains étant plus nombreux et volumineux. Lors de la réalimentation, les cellules de Paneth se dégranulent (WINDISCH 1966, LAUMONIER et METAYER 1967, BALAS 1970). Cette dégranulation est précoce ; la charge granulaire se reconstitue dans la première heure.

Par contre l'influence du régime alimentaire reste encore obscure. Les régimes chroniques ne semblent pas modifier la répartition et la charge granulaire des cellules de Paneth (Windisch 1966). La diète lactée augmente cependant significativement le nombre des cellules de Paneth granulaires (RECKNAGEL et Coll 1972). Par contre l'ingestion d'un repas lipidique ou protéique semble favoriser la sécrétion des cellules de Paneth (MIRAM 1912, MOLS 1930, HALLY 1958).

Depuis les travaux de CORDIER (1923), nous savons que les cellules de Paneth sont totalement et immédiatement dégranulées après injection de chlorhydrate de pilocarpine. La dégranulation par la pilocarpine a été confirmée depuis par de nombreux auteurs (STANLEY et TRIER 1965, TRIER et Coll 1967, AHONEN 1970, GENT 1972). L'atropine inhibe au contraire la sécrétion des cellu-

les de Paneth (STANLEY et TRIER 1965, TRIER et Coll 1967). La dégranulation des cellules de Paneth sous l'action des catécholamines (PENTILLA 1969, AHONEN 1969, 1970, 1971) peut être intensifiée par les inhibiteurs de la monoamine-oxydase ou freinée par l'imipramine et la cocaïne (AHONEN 1971).

Le rôle joué par le système nerveux autonome sur la sécrétion des cellules de Paneth a donc été particulièrement bien étudié au cours de ces dernières années. Les travaux récents de AHONEN (1973) confirment le rôle joué par le pneumogastrique qui favorise la sécrétion de cet élément cellulaire. Par contre, fait surprenant, la sympathectomie chimique par la 6-hydroxydopamine inhiberait la sécrétion de la cellule de Paneth.

A notre connaissance le rôle éventuel des hormones gastro-duodénales sur la sécrétion des cellules de Paneth n'a jusqu'à ces derniers temps jamais été envisagé.

Depuis, BALAS (1970-1973-1974) a pu montrer que la cellule de Paneth obéissait à un mécanisme de régulation hormonale au cours des épisodes digestifs. La pancréozymine et son homologue de synthèse, la caeruléine, provoquent l'exocytose des grains de zymogène. L'action de la pancréozymine sur la cellule de Paneth suggère donc une relation éventuelle entre cet élément et la cellule acineuse pancréatique. Une telle hypothèse semble recevoir confirmation puisque la ligature des canaux pancréatiques entraîne une hypertrophie des cellules de Paneth (BALAS 1973-1974). Toutefois, la pancréozymine n'est peut-être pas l'hormone directement responsable de l'excrétion granulaire. BALAS (1974) envisage la possibilité de sécrétion par la muqueuse duodénale d'une hypothétique "entérocrinine" stimulant spécifiquement l'excrétion zymogénique des cellules de Paneth.

Le retentissement des glandes endocrines sur la sécrétion des cellules de Paneth n'a également été que rarement envisagé. BAKER et BRIDGMANN (1951) ont montré que la surrénalectomie entraîne un gonflement de la cellule de Paneth ainsi qu'une A.P.S. positivité accrue des grains de sécrétion. BALAS (1972) a pu montrer, chez le Hamster, l'action essentielle jouée par la cortico-surrénale ; les glucocorticoïdes stimulant la synthèse protéique de la cellule.

D'autre part LAUMONIER et METAYER (1967) ont constaté une dégranulation des cellules de Paneth chez le Rat après injection de sérotonine ; ces résultats ont été confirmés par BALAS (1970-1974).

Quant à la fonction de la cellule de Paneth, elle est encore mal connue. La plupart des auteurs s'accordent pour supposer que la cellule de Paneth sécrète des enzymes digestives dans la lumière intestinale. Pour certains, il s'agirait de peptidases (BEHNKE et MOE 1963, MOE 1967, KUROSUMI 1961) ; pour d'autres la cellule de Paneth sécrèterait des métaux lourds (Halbhuber et Coll. 1970). CREAMER (1967) suppose que la cellule de Paneth serait à l'origine d'un facteur trophique nécessaire au développement des villosités intestinales. Pour ERLANDSEN et CHASE (1972) la cellule de Paneth est capable de phagocyter des bactéries et des flagellés de la flore intestinale. GENT (1972) suppose que la cellule de Paneth sécrète des amino-acides.

La sécrétion du lysozyme intestinal par la cellule de Paneth semble cependant certaine (PEETERS et VANTRAPPEN 1974). Mais bien d'autres enzymes sont probablement supportées par les grains de zymogène des cellules de Paneth.

HISTOPATHOLOGIE

La cellule de Paneth a donné lieu à quelques observations anatomo-pathologiques. En fait, cette orientation de recherche n'a guère été suivie et il est encore, à l'heure actuelle, impossible d'établir des cadres lésionnels où la cellule de Paneth interviendrait ou participerait.

LAUMONIER et METAYER (1967) ont cherché à mettre en évidence l'influence possible de cette cellule au cours des colites ulcéreuses. Ces auteurs constatent un accroissement du nombre des cellules de Paneth au niveau du côlon. En admettant que la cellule de Paneth ait une activité peptidasique, LAUMONIER et METAYER estiment que l'accroissement en nombre de ces éléments pourrait avoir une action aggravante sur le syndrome (phénomène d'auto-digestion).

LAUMONIER et METAYER (1967) ont également observé une hyperplasie des cellules de Paneth dans la muqueuse péri-lésionnelle au cours des ulcères

peptiques post-opératoires.

Le comportement de la cellule de Paneth dans les tumeurs digestives a également été étudié (LAUREN 1961, OTTO et FETT 1972). La présence des cellules de Paneth dans les tumeurs bénignes est presque constante ; en particulier dans les tumeurs à signification d'hamartome ; les polyadénomes en seraient dépourvus . Les tumeurs malignes ne possèdent qu'exceptionnellement des cellules de Paneth. Il semble en outre exister une raréfaction de cet élément cellulaire à proximité et au contact des adénocarcinomes du grêle.

Le travail de OTTO et FETT (1972), sur un grand nombre d'observations au cours de différentes maladies de l'appareil digestif, ne permet pas de préciser le rôle éventuellement joué par la cellule de Paneth dans les processus pathologiques.

Il est en outre probable que des modifications des cellules de Paneth devraient apparaître au cours des syndrômes de malabsorption (LAUMONIER et METAYER 1967). Cette étude n'a pas encore été envisagée. La généralisation de la biopsie intestinale devrait permettre de combler nos lacunes actuelles sur le rôle dévolu à la cellule de Paneth en pathologie digestive.

LIMITES DU TRAVAIL PERSONNEL

Si histologiquement la connaissance de la cellule de Paneth est déjà ancienne, sa physiologie semble avoir été, jusqu'à un jour récent totalement ignorée.

Dans ce travail nous nous sommes attachés, tout d'abord, à préciser, sur le plan morphologique, les variations histologiques (situation, nombre, structure) des cellules de Paneth chez différentes espèces animales. Nous avons également envisagé les rapports de la cellule de Paneth avec les éléments cellulaires voisins de l'épithélium de revêtement de la muqueuse intestinale.

Nous avons poursuivi cette étude par l'observation de la cellule de Paneth chez le Hamster en microscopie électronique.

Une comparaison histochimique des grains de zymogène des cellules de Paneth chez différentes espèces a également été entreprise.

Mais c'est l'approche des mécanismes histophysiologiques de régulation de la sécrétion des cellules de Paneth qui nous a le plus retenu. En effet, l'analyse des travaux antérieurs montre que de nombreux centres d'intérêt peuvent être considérés et représentent différentes orientations de recherches, tant nos connaissances sont encore fragmentaires. C'est en particulier la variabilité des cellules de Paneth au cours du processus de la digestion, l'influence de l'alimentation et de régimes sélectifs, le mode d'excrétion, la régulation (nerveuse, endocrinienne, neuro-endocrinienne ?)

des mécanismes sécrétoires, les interactions avec la cellule acineuse pancréatique et les sécrétions pancréatico-biliaires.

La fonction et le rôle exact des grains de zymogène des cellules de Paneth semblent également un point primordial à élucider.

Ce sont ces diverses orientations de recherches qui nous ont le plus préoccupés et auxquelles nous avons tenté d'apporter une ébauche de solution.

CHAPITRE II

MATERIEL ET TECHNIQUES

MATERIEL ET TECHNIQUES

La Souris a été retenue comme matériel d'expérimentation pour sa facilité d'élevage et de reproduction. C'est également chez cet animal que les recherches effectuées sur la cellule de Paneth ont été les plus nombreuses, ce qui nous a permis de confronter nos résultats avec les travaux antérieurs.

Mais nous avons principalement utilisé, pour nos recherches et notre expérimentation, le Hamster (*Mesocricetus Auratus*) dont l'intestin possède un nombre important de cellules de Paneth. En outre les études histophysiologiques préliminaires nous ont permis de constater qu'il existait une bonne reproductibilité inter et intra-essai chez cette espèce au cours des différentes expérimentations. Enfin le Hamster s'est révélé particulièrement résistant au cours des manipulations opératoires.

Nous décrivons ici les techniques d'histologie ou d'histophysiologie générales utilisées. Les techniques spéciales sont indiquées dans les chapitres correspondants.

MICROSCOPIE OPTIQUE

Dès 1906, Klein avait remarqué que la conservation de la cellule de Paneth dépendait grandement du choix liquide fixateur. Nous avons donc recherché la technique de fixation paraissant préserver au mieux l'aspect morphologique des cellules de Paneth chez la Souris et le Hamster. Nous avons ainsi testé, au niveau de la partie basse du jéjunum, une trentaine de liquides fixateurs. Dans tous les cas les techniques classiques, en rapport avec chaque

fixateur, ont été respectées (temps de fixation, lavage, déshydratation) pour aboutir à l'inclusion dans la paraffine. Les coupes ont été colorées par la technique de MALLORY-GASON (1950).

Nous résumons succinctement nos observations dans le tableau ci-dessous :

FIXATEURS	FIXATION TOPOGRAPHIQUE	FIXATION CYTOLOGIQUE		CONSERVATION DES GRAINS DE LA CELLULE DE PANETH
		Cytoplasme	Noyau	
ALCOOLIQUE:				
Carnoy	+	-	+	-
Alcool-Formol	+	+	+	-
PICRIQUES				
Bouin	++	+	+	-
Bouin sans acide acétique	+	-	-	+
Bouin TCA	+	++	+	+
Duboscq-Brasil	+	+/-	+	-
Bouin Hollande	++	+	+	-
Bouin Hollande sublimé	++	++	+	-
Gendre	+	+	+	-
FORMOLES				
Formol neutre 10 "	Rétractions	granuleux	+	+
Formol iso	+/-	»	+	+
Formol de Schiller	+	»	+	+
Formol de Baker	+	»	+	+
Da Fano	+	++	+	++
CHROMIQUES :				
Tellienicksky	+	+	+	-
bichromate- formol-acide	++	+	++	-
acétique				
Regaud	++	+	+	+
SUBLIMES :				
Zenker	++	+	+	+
Helly	+	++	++	++
Maximow	+	+++	++	++
Kolster	+	+	++	++
Suza	++	+	+	-
Romeis	++	++	+	+
OSMIES :				
Flemming	-	++	+	-
Flemming sans acide acétique	- -	+	+	+
Benda	-	++	++	-
Von Rath	+	+	+	-
Maximow - O ₅ O ₄	++	+++	+++	+++

Ce sont donc des liquides contenant à la fois du chlorure mercurique et du bichromate de potassium qui représentent les meilleurs fixateurs cytologiques de l'épithélium intestinal tout en conservant sans rétraction importante la topographie du tissu.

Les liquides de Maximow et de Helly semblent les meilleurs. Cette étude rapide des différents fixateurs nous a permis de confirmer les assertions des travaux antérieurs quant à la conservation des grains de la cellule de Paneth.

A l'analyse du tableau nous constatons en effet que l'alcool éthylique dissout les grains (Carnoy, alcool-formol). Il en est de même pour les acides dilués, et, en particulier, pour l'acide acétique (en effet si les grains sont détruits dans le Bouin, ils sont conservés dans le liquide de Bouin sans acide acétique).

Mais, en opposition avec la littérature, nous n'avons pas mis en évidence de dissolution des grains par l'acide trichloracétique contenu dans le Bouin T.C.A.. Il est vrai qu'il s'agit d'un acide organique à forte dissociation. Il est d'ailleurs possible que les autres agents du mélange "protègent" les grains ; cela paraît cependant surprenant puisque l'acide trichloracétique possède la plus grande vitesse de pénétration du mélange (1 à 2 mm/heure pour le T.C.A. contre 0,3 à 0,5 mm/heure pour l'acide picrique et 0,7 à 0,8 mm/heure pour le formol). De même, le liquide de Zenker représente un bon fixateur des grains bien que contenant de l'acide acétique.

Donc, si on peut affirmer que l'alcool détruit les grains, l'action solubilisante des acides dilués ou de l'acide trichloracétique doit être plus nuancée. Toutefois il reste acquis que l'emploi de ces composés doit être évité.

Notre choix s'est porté, en dernière analyse, sur le fixateur de Maximow pour une fixation cytoplasmique légèrement supérieure et une très bonne conservation des grains de sécrétion pour lesquels on ne note pas de rétraction apparente au niveau du halo périphérique. Ce fixateur prépare bien les pièces aux différentes colorations ; toutefois le temps de fixation ne doit pas excéder 6 heures. Après fixation, un lavage à l'eau courante est

nécessaire. Signalons que le liquide de Maximow additionné de 10 pour cent d'acide osmique représente sûrement le meilleur fixateur cytologique pour de petits prélèvements. Il n'a pas été retenu étant donné son prix de revient et l'apport de la microscopie électronique pour les études cytologiques.

Au cours de la plupart des expérimentations la technique de préparation des blocs de prélèvement a donc été la suivante :

- fixation dans le liquide de Maximow : 3 à 6 heures.
- lavage à l'eau courante : 2 heures.
- déshydratation directe dans l'alcool absolu : 5 bains de 3 à 12 heures.
- éclaircissement dans le xylène ou le toluène : 3 bains de 1 h 30.
- imprégnation dans la paraffine à 56° : 1 bain de 2 heures, suivi d'un bain de 12 heures.
- inclusion dans la cytoparaffine (certains prélèvements ont été traités par inclusion mixte celloïdine - paraffine pour mieux conserver la topographie du tissu).

Les blocs ont été débités en coupes de 4 μ d'épaisseur sur un microtome à glissière Jung avec un rasoir à profil type D.

Les coupes étalées ont été colorées, pour l'observation systématique,

- par la technique de Mallory (variante proposée par CASON 1950).
- ou le trichrome de GABE et MARTOJA (1957).

Ces deux colorations donnent des résultats constants et satisfaisants ; la coloration nucléaire est cependant très faible. Il est certain que les colorations par l'hématoxyline ferrique, les méthodes de Mann ou panoptique de Pappenheim sont celles qui visualisent le mieux la cellule de Paneth et ses grains de sécrétion. Nous avons dû y renoncer car il s'agit de techniques trop longues, incompatibles avec la multiplication des prélèvements et des coupes.

Plus particulièrement pour la réalisation des microphotographies au cours de l'observation histomorphologique des cellules de Paneth chez la Souris et le Hamster, nous avons mis au point une coloration à l'hémalun-fuchsine-vert lumière :

- coupes déparaffinées, ré-hydratées.
- hémalun de Meyer : 5 mn
- différenciation à l'alcool chlorhydrique 2,5 % : 30 secondes.
- lavage à l'eau courante : 5 mn, suivi d'un lavage à l'eau distillée.
- fuchsine acide 1% : 2mn.
- lavage rapide à l'eau distillée ; différenciation dans l'acide phosphotungstique 1 % : 2 mn.
- coloration par le vert lumière 1 % additionné de 2 % d'acide acétique : 1 mn
- déshydratation directe par l'alcool à 100° ; Xylol ; montage au Baume du Canada.

Les noyaux sont colorés en bleu, les cytoplasmes en rose, le collagène en vert, les grains de sécrétion de la cellule de Paneth en rouge. Cette coloration donne un contraste suffisant sans qu'il y ait une surcharge de colorant au niveau des grains de sécrétion.

MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Nous avons testé différents types de techniques pour visualiser en microscopie électronique la cellule de Paneth. Nous avons ainsi pu constater :

1°) que la double fixation glutaraldéhyde-tétroxyde d'osmium est nécessaire pour limiter les extractions protéiques au sein de cette cellule.

2°) qu'il est nécessaire d'ajuster les tampons des fixateurs et les tampons de rinçage à 550 milliosmoles (par adjonction de chlorure de sodium ou de sucre) pour éviter des gonflements mitochondriaux.

Nous avons donc procédé de la façon suivante :

- fixation dans la glutaraldéhyde (Schuchardt) 3 % - tampon Sörensen pH 7,4 (550 m. osm.)
- lavage rapide (4 bains de 5 minutes) dans un tampon Sörensen pH 7,4 ajusté à 550 m. osm..
- post-fixation au tétroxyde d'Osmium = 2 % dans un tampon Sörensen pH 7,4 (l'ajustement de l'osmolalité n'est plus alors nécessaire)
- deshydratation dans les alcools croissants de 50° à l'alcool absolu
- oxyde de propylène : 2 bains de 1/2 heure
- mélange oxyde de propylène-résine : 1 heure
- imprégnation dans l'épon-araldite (Coulter 1967) : 1 nuit à 4°.
- inclusion et polymérisation dans l'épon araldite : 12 heures à 55°.

Nous avons également mis au point une technique rapide de fixation et d'inclusion qui s'avère donner d'excellents résultats sur la muqueuse intestinale (Cayrac, Prats, Balas 1973)

A. Méthode rapide pour des prélèvements cubiques de 0,5 mm de côté en 1 heure 45 minutes

- fixation 15 mn dans la glutaraldéhyde 3 % à la température du laboratoire ;
- deux rinçages rapides de 30 secondes dans le tampon Sörensen ;
- post-fixation dans le tétroxyde d'osmium 2 % pendant 15 mn à la température du laboratoire ;
- deshydratation dans les alcools croissants. 50 % : 4 mn. 95 % : 5 mn. Absolu : 3 X 2 mn ;
- oxyde de propylène : 3 X 3 mn ;
- mélange oxyde de propylène-résine à quantité égale : 5mn ;
- imprégnation dans la résine préalablement portée à 45° C : 15 mn sous vide ;
- inclusion à plat et polymérisation dans l'étuve à 100° C : 30 mn.

B. Méthode rapide pour des prélèvements cubiques de 1 mm de côté en 3 heures 15 minutes

- fixation 30 mn dans la glutaraldéhyde 3 % à la température du laboratoire ;
- trois rinçages de 3 mn dans le tampon Sörensen ;
- post-fixation dans le tétroxyde d'osmium 2 % pendant 1 heure à 4° C ;
- deshydratation dans les alcools croissants. 50 % : 5 mn. 95 % : 5 mn. Absolu : 3 X 3 mn ;
- oxyde de propylène : 4 X 3 mn ;
- mélange oxyde de propylène-résine à quantité égale : 5 mn ;
- imprégnation dans la résine (à 45° C) : 30 mn sous vide ;
- inclusion à plat et polymérisation : 30 mn à 100° C.

Au cours des deux techniques rapides, pour faciliter les phénomènes de diffusion, tous les bains sont maintenus en agitation permanente sur un agitateur rotatif à plateau. L'imprégnation est réalisée, dans un évaporateur, le vide étant progressivement amené à 10^{-4} Torr.

L'inclusion est réalisée dans un mélange épon-araldite dans les proportions suivantes :

- | | |
|---------------------------------------|-------|
| - DDSA (Schuchardt) | 60 ml |
| - Araldite C Y 212 (Schuchardt),..... | 20 ml |
| - Epikote 812 (Schuchardt) | 25 ml |

L'homogénéisation est obtenue par agitation pendant 1 heure 30 minutes.

Au mélange est ajouté 4 % de DMP 30 (Schuchardt). L'agitation est poursuivie pendant 30 mn. La résine prête à l'emploi est conservée au congélateur à - 30° C pendant plusieurs semaines. La qualité des résultats obtenus est comparable à ce qui est habituellement observé après utilisation des techniques de fixation et d'inclusion classiques.

Aux faibles grossissements, quelles que soient les zones de coupe, l'architecture générale du tissu est conservée.

A des grandissements plus importants, nous n'avons jamais décelé de destruction des organites cellulaires que ce soit au niveau des dispositifs desmosomiques et tonofilamentaires, des centrosomes et microtubules, du noyau et de sa paroi, des grains de sécrétion zymogénique.

En outre, nous avons été surpris par la densité et la richesse des contenus intra-membranaires. Comme Hayat et Giaquinta (1970) avaient déjà pu le constater la densité des matrix mitochondriales est plus importante après utilisation des techniques rapides.

Il en est de même au niveau des sécrétions protidiques du réticulum granulaire et du contenu intra-sacculaire golgien. De manière plus générale, l'augmentation de la densité tissulaire se traduit par un accroissement du contraste à l'observation et à la photographie des coupes ultra-fines.

Par rapport aux techniques lentes de fixation et d'inclusion, la conservation tissulaire, pour des prélèvements traités par les méthodes rapides, semble donc identique, sinon parfois meilleure pour certains tissus. Le raccourcissement des temps semble limiter les extractions tissulaires.

A l'analyse des multiples tests qui nous ont permis de mettre au point les méthodes rapides proposées, plusieurs facteurs nous paraissent devoir être soulignés.

a. La réduction des temps impose l'agitation permanente des bains pour favoriser la diffusion et la pénétration intra-tissulaire des agents fixateurs.

b. La température du bain de glutaraldéhyde n'est pas critique. En ce qui concerne la méthode en 1 h 45 mn, nous avons par contre obtenu les résultats optimums en post-fixant au tétroxyde d'osmium à la température du laboratoire.

c. La possibilité d'obtenir, immédiatement après refroidissement des blocs d'inclusion, des coupes ultra-fines grises ou blanches dépend de la qualité de l'imprégnation du tissu par la résine. A 45° C la fluidité de la résine est suffisante pour obtenir rapidement la pénétration totale et homogène du tissu sous vide sans qu'interfère un début de polymérisation, le temps d'imprégnation étant raccourci.

d. La polymérisation en étuve à 100° C n'entraîne pas de destruc-

tion cytologique. Par contre, à cette température, les proportions du mélange épon-araldite (Mollenhauer, 1964) ont un retentissement important sur la dureté des blocs inclus, secondairement sur la facilité d'obtention des coupes, ce qui confirme les observations de Geiselman et Burke (1973).

e. Il paraîtrait souhaitable d'utiliser des résines à basse viscosité telles que le Spurr (1969). Toutefois, nous n'avons pas obtenu de résultats satisfaisants avec ce milieu d'inclusion. En effet, nous n'avons pu raccourcir le temps de polymérisation qu'au prix d'une augmentation de la concentration en accélérateur (DMNE). Dans ces conditions, il semble difficile d'obtenir des coupes de bonne qualité, la résine étant particulièrement friable et cassante.

f. L'inclusion à plat (système de boîte à inclusion Reichert) rend possible d'une part l'orientation des prélèvements dans le cas où elle est nécessaire, d'autre part permet de raccourcir le temps de polymérisation de 15 mn (une polymérisation en gélule nécessite 45 mn à 100° C). En outre, il est possible d'inclure 2 ou 3 blocs tissulaires adjacents qui peuvent être par la suite coupés et visualisés simultanément.

Dans ces conditions, les méthodes rapides en 1 h 45 mn ou 3 h 15 mn nous permettent actuellement d'obtenir des résultats constamment reproductibles.

Les blocs d'inclusion ont été débités en coupes sur un ultramicrotome Porter-Blum M-T_I ou sur un ultramicrotome Reichert OMU-3. Les coupes ont été colorées par l'acétate d'uranyle et le citrate de Plomb selon la technique de Venable (1965). Les préparations ont été observées puis photographiées en utilisant des microscopes électroniques Hitachi (HU_{II} et HU_{IIA}) ou Siemens (Elmiskop 102).

TECHNIQUES HISTOPHYSIOLOGIQUES

Avant toute expérimentation les animaux ont été soumis à une diète hydrique de 48 heures, en cages métaboliques pour éviter les risques de coprophagie.

Les animaux étaient soumis à un rythme d'éclairement constant artificiel : 14 heures de jour, 10 heures de nuit. Ils ont presque toujours été

sacrifiés au cours des quatre premières heures de la matinée.

La plupart des préparations opératoires ont été réalisées sur des animaux anesthésiés à l'éthyl-méthyl-butyl barbiturate de Sodium (Nembutal) à la dose de 50 mg/kg en injection intra péritonéale.

Avant prélèvement des pièces histologiques les animaux ont été sacrifiés par décapitation.

Nous avons effectué de nombreuses numérations pour évaluer le taux de charge granulaire momentanée des cellules de Paneth. Ces numérations ont été réalisées sur des coupes strictement transversales et non sériées. L'intervalle de confiance au risque 0,05 a été calculé. Les comparaisons de moyenne ont été le plus souvent effectuées par le test de "t" de Student.

Nous avons généralement évalué quantitativement la charge granulaire des cellules de Paneth en établissant le rapport entre le nombre de glandes de Lieberkühn possédant des cellules de Paneth en charge granulaire et le nombre de fonds de glandes observables sur les coupes transversales. Les pourcentages ainsi obtenus traduisent le taux de charge zymogénique momentanée , à un niveau donné de la muqueuse de l'intestin grêle.

CHAPITRE III

ETUDE HISTOLOGIQUE DE LA CELLULE DE PANETH

CHAPITRE III - A

ETUDE MORPHOLOGIQUE EN MICROSCOPIE OPTIQUE
DE LA CELLULE DE PANETH
CHEZ DIFFERENTES ESPECES ANIMALES

ETUDE MORPHOLOGIQUE EN MICROSCOPIE OPTIQUE

DE LA CELLULE DE PANETH

CHEZ DIFFERENTES ESPECES ANIMALES

La morphologie de la cellule de Paneth est actuellement bien connue (cf. chapitre IB). Sans revenir sur la description détaillée de cet élément, il nous a paru néanmoins nécessaire d'en préciser quelques points particuliers chez différentes espèces. Plus spécialement chez le Hamster, la Souris, le Rat et le Cobaye nous avons observé les "variabilités" de structure, de nombre et de position en fonction de la région de l'intestin grêle considéré.

I. MATERIEL ET TECHNIQUES

Les animaux âgés de 3 mois, soumis à la diète hydrique pendant 48 heures, ont été sacrifiés pour effectuer des prélèvements multiples au niveau du duodénum, du jéjunum, de l'iléon.

Les pièces, fixées dans le liquide de Maximow, incluses dans la paraffine, puis coupées transversalement, ont été, pour la plupart, colorées par le trichrome de Gabe et Martoja, la technique de Mallory-Cason ou l'hémalum-fuchsine vert lumière (voir chapitre II).

Les préparations ainsi obtenues furent observées, puis microphotographiées au même grandissement linéaire. Nous avons éliminé les prélèvements pour lesquels la vacuité intestinale ne paraissait pas totale malgré l'utilisation des cages métaboliques.

A chaque niveau intestinal le taux de charge granulaire des cellules de Paneth a systématiquement été évalué.

II. RESULTATS DESCRIPTIFS

A. Morphologie de la cellule de Paneth chez la Souris.

a. Variabilité dans la structure.

La taille des cellules de Paneth est variable selon le segment de l'intestin grêle considéré (fig. 2a, b, c et d).

C'est au niveau du duodénum qu'elles sont les moins volumineuses ; 4 à 5 μ à leur point d'implantation de base et 8 à 9 μ de hauteur. La taille augmente au niveau du jéjunum (6 à 8 μ de base pour 12 à 14 μ de hauteur), elle diminue dans la région de l'iléon (5 à 6 μ de base pour 9 μ de hauteur).

Les différences de taille s'accompagnent de variations dans la forme même de la cellule de Paneth.

Pyramidales, hautes, à pôle apical souvent étroit, acuminées (0,5 à 1 μ) au niveau du duodénum, elles présentent un même aspect dans la région jéjunale avec cependant un apex plus large (4 μ environ) ; par contre, dans l'iléon, elles sont alors pyramidales basses jusqu'à proximité de la valvule iléo-coecale.

Il existe également des modifications régionales dans la structure interne de la cellule de Paneth. Si, partout, le noyau, la zone golgienne, l'ergastoplasme ne paraissent apparemment pas modifiés, il faut signaler des variations importantes quant au nombre, à la taille et à la disposition des grains de sécrétions.

Les éléments situés au niveau du duodénum montrent une accumulation apicale des grains de zymogène (20 environ), tassés les uns contre les autres, de volume constant et de taille ne dépassant pas 1 micron de diamètre.

Dans la région jéjunale au contraire, les cellules de Paneth présentent un stock granuleux apical débordant largement sur les flancs de la cellule et atteignant même les espaces latéro-nucléaires. Les granulations, de taille variable, plus volumineuses à l'apex (jusqu'à 2 μ de diamètre), diminuent de taille au niveau de la zone golgienne où cependant se rencontrent quelques grains volumineux.

La région iléale montre des cellules identiques à celles de l'étage jénunal avec néanmoins des granulations spécifiques moins volumineuses.

b. Variabilité du nombre de cellules de Paneth. (fig. 2 a-b-c)

Variable selon la portion de l'intestin grêle considérée, pratiquement nul au niveau des glandes de Lieberkühn de la région proximale gastrique du duodénum, leur nombre est de trois à quatre par cul de sac de glandes de Lieberkühn du duodénum juxta-jénunal.

De sept à huit par fond de glandes jéjunales, leur nombre tend à diminuer (cinq à sept) dans l'iléon et à disparaître à proximité de la valvule iléo-coecale.

c. Variabilité de position des cellules de Paneth.

Bien que les cellules de Paneth caractérisent les culs de sac glandulaires de l'intestin grêle, nous avons retrouvé de tels éléments (disposition hétérotypique) :

- Soit au niveau de la jonction des fonds des cryptes avec les glandes de Brünner, soit même au sein de ces dernières (2 à 3 par préparation histologique). Une réaction à l'A.P.S., suivie d'un trichrome de Gabe, nous a permis de différencier les cellules de Paneth à grains rouge vif des éléments acineux muqueux brunnériens colorés en pourpre par le réactif de Schiff.

Ces éléments, toujours isolés, ont une structure comparable aux cellules de Paneth du duodénum.

- Soit à n'importe quel niveau de l'intestin grêle avec une prédilection de fréquence marquée pour le jéjunum.

Certaines restent cependant à proximité du fond de la glande de Lieberkuhn et ne sont séparées des autres cellules de Paneth que par une ou deux cellules indifférenciées avec parfois interposition d'une cellule caliciforme, ce qui correspond à des précédentes descriptions (HALLY 1958, STANLEY et TRIER 1965, THROUGHTON et TRIER 1969). La cellule possède alors une structure identique à la description classique ; les grains sont volumineux.

D'autres éléments, situés à n'importe quel niveau des murs latéraux de la glande de Lieberkühn, sont assimilables aux descriptions de THROUGHTON et TRIER en microscopie électronique sous le terme de cellules "intermédiaires". Ces cellules ont une structure de cellule caliciforme avec quelques granulations acidophiles (évoquant les granulations des cellules de Paneth) au sein du gobelet muqueux (fig. 3a).

Nous avons pu également observer des cellules de Paneth de plus petite taille sur les flancs de la glande de Lieberkühn chez des animaux strictement à jeun. Le pôle apical est moins étroit mais les grains de sécrétion sont en tout point comparables : parfois de forme plus irrégulière, ils mesurent 1μ de diamètre, possèdent un halo clair périphérique et sont strictement accumulés à l'apex cellulaire.

d. Numérotation des cellules de Paneth

L'évaluation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth au fond des glandes de Lieberkühn est résumé dans le tableau suivant :

Souris : 10 animaux	Etage du prélèvement	Taux de Charge granulaire
Duodénum	Zone prépylorique à 3cm du pylore	$0,112 \pm 0,0045$ $0,641 \pm 0,067$
Jéjunum	1/3 supérieur 1/3 médian 1/3 inférieur	$0,843 \pm 0,078$ $0,792 \pm 0,049$ $0,768 \pm 0,101$
Iléon	à 3cm du coecum	$0,519 \pm 0,122$

Les résultats sont figurés sur les histogrammes de la figure 1.

Comme l'ont déjà signalé les recherches antérieures, la proportion de cellules de Paneth varie suivant l'étage intestinal. Chez la Souris, peu représentées dans la région juxta-pylorique, les glandes possédant des cellules de Paneth granulaires, augmentent rapidement pour atteindre un maximum dans le jéjunum et plus particulièrement dans son quart supérieur. Le pourcentage décroît très vite dans l'iléon.

B. Morphologie de la cellule de Paneth chez le Hamster.

Parallèlement nous avons effectué cette étude morphologique chez le Hamster ; les conditions de prélèvement, fixation, inclusion, observation étant en tous points comparables à celles de la Souris.

a. Variabilité de structure.

Chez le Hamster, s'il existe également des variations de structure en fonction de l'étage intestinal considéré, elles sont cependant beaucoup moins importantes que chez la Souris. (fig. 3b)

La taille des cellules de Paneth varie peu : 8 à 13 microns de hauteur pour 3 à 5 microns à la base et 1,5 microns de largeur au sommet ; c'est au niveau de la partie terminale du jéjunum que ces éléments sont les plus volumineux.

La cellule a un aspect pyramidal haut, souvent même cylindrique (en particulier au niveau du duodénum terminal). Le pôle apical est toujours étroit, arrondi à convexité externe. Après un jeûne de 48 heures, les grains de sécrétion sont strictement accumulés dans l'apex cellulaire. Exceptionnellement, au niveau de la partie basse du jéjunum, on peut observer des grains disséminés dans l'étage sus-nucléaire des cellules de Paneth. La charge granulaire apicale est très dense et la limite intra-cellulaire de ces granulations dessine une convexité basale. Les grains, jointifs, ne subissent aucune déformation.

Les grains sont très chromophiles, strictement sphériques. Nous n'avons jamais noté, quel que soit le liquide fixateur utilisé, la présence d'un halo périphérique contrairement à ce qui avait pu être observé chez d'autres espèces. Le nombre de ces grains apicaux peut être évalué à trente ou cinquante

environ. Leur diamètre est beaucoup plus petit que chez la Souris : 0,5 à 0,8 microns, c'est au niveau de la partie basse du jéjunum ou dans l'iléon que nous avons observé les grains les plus volumineux ; dans la partie haute de l'intestin les grains ont tous la même taille dans la même cellule : ils ne dépassent pas 0,5 micron de diamètre.

b. Variabilité du nombre de cellules de Paneth.

Au niveau du duodénum, la présence de cellules de Paneth au fond des glandes de Lieberkühn est exceptionnelle. Il est vrai que la structure du duodénum chez le Hamster est particulière : les canaux muqueux de la glande de Brunner s'abouchent presque toujours directement à la base des glandes de Lieberkühn. La zone constituant le fond des glandes est ainsi presque inexistante : cette disposition expliquerait la rareté des cellules de Paneth dans l'étage duodénal.

Dans les premiers segments jéjunaux, le nombre de cellules de Paneth est encore réduit : 3 à 4 cellules par cul de sac glandulaire ; il augmente ensuite assez rapidement, pour atteindre un maximum de 5 à 7 cellules de Paneth par glande au niveau de la partie basse du jéjunum où ces éléments remontent même le long des murs latéraux de la crypte de Lieberkühn.

Enfin, au niveau de l'iléon, très court chez le Hamster, le nombre de cellules de Paneth par glande décroît à nouveau très rapidement.

c. Variabilité de position de la cellule de Paneth.

Chez le Hamster, comme chez la Souris, nous avons pu constater de nombreuses hétérotypies.

1 - Au niveau du duodénum, la présence de cellules de Paneth dans les acinis muqueux de la glande de Brünner est beaucoup plus fréquente que chez la Souris. Ces éléments sont toujours isolés et d'aspect identique à la cellule de Paneth normale. (fig. 3c et d)

2 - De même, on peut observer des cellules de Paneth remontant très haut le long du revêtement épithélial de la glande de Lieberkühn. Cette disposition hétérotypique est particulièrement fréquente dans la partie basse

du jéjunum. Nous les avons rencontrées à tous les niveaux le long des murs latéraux de la glande. (fig. 4a)

Si chez la Souris, la structure de ces éléments hétérotypiques différerait partiellement de celle des cellules de Paneth du fond de la glande par la taille plus petite et parfois un aspect plus irrégulier des grains, chez le Hamster, tous ces éléments sont comparables. L'association de la réaction à l'A.P.S. au trichrome de Gabe n'a jamais révélé une A.P.S. positivité au niveau des grains.

d. Les cellules "intermédiaires".

D'autre part, il est fréquent de rencontrer, dans la partie juxta-iléale du jéjunum, des cellules ayant à la fois des caractères communs à la cellule de Paneth et à la cellule caliciforme. Ces éléments peuvent être situés sur les murs latéraux de la glande de Lieberkühn ou à la base des villosités, mais plus fréquemment se rencontrent à la limite supérieure de la zone des cellules de Paneth. Leur pôle apical est plus arrondi et globuleux que dans une cellule de Paneth normale, rappelant plutôt celui d'une cellule caliciforme. Il est alors chargé d'une substance A.P.S. positive dans laquelle se détachent de fins granules fortement chromatiques et acidophiles, arrondis, disséminés dans la substance muqueuse mais parfois en plus grand nombre à l'apex cellulaire ou au contraire à proximité du noyau. (fig. 4b et c)

En outre, au cours de l'observation systématique de sections transversales de jéjunum de Hamster, nous avons fortuitement découvert chez un animal apparemment sain (Hamster femelle), une tumeur bénigne de l'intestin grêle. Il s'agit d'une tumeur diffuse, de très petite taille, développée dans le chorion muqueux, occupant une hémisection transversale et déprimant partiellement la lumière du tube intestinal. La tumeur ne franchit pas la muscularis mucosae qu'elle repousse vers l'extérieur. Dans la zone tumorale, on assiste à la disparition des fonds de glandes de Lieberkuhn qui sembleraient proliférer à l'intérieur du chorion sous forme d'amas cellulaires séparés par de fines travées conjonctives. Les éléments constitutifs de cette tumeur sont de quatre types, (fig. 4d)

- des cellules, les plus nombreuses, à cytoplasme faiblement chromophile et sans différenciation intra-cytoplasmique.

- des cellules volumineuses, à contour polyédrique, dont le cytoplasme est occupé par une grosse enclave de nature muqueuse qui repousse le noyau. Il s'agit de muco-polysaccharides acides, (mucus A.P.S. positif, bleu alcian positif, métachromatique au bleu de toluidine pH : 4), donc identiques au contenu des cellules caliciformes. Ces cellules sont nombreuses.

- des cellules comparables par leur forme et leur taille aux cellules indifférenciées (1er type) mais dont une zone polaire du cytoplasme est occupée par de multiples grains sphériques acidophiles comparables aux grains de la cellule de Paneth bien que le diamètre soit plus petit. Ce sont les moins nombreuses.

- des cellules ayant à la fois des caractères de la cellule de Paneth et de la cellule muqueuse : après coloration par l'A.P.S. suivie de trichrome de GABE on observe, à l'intérieur de l'enclave muqueuse, la présence de granules acidophiles. Leur nombre est moins grand que celui des cellules indifférenciées.

Ces éléments cellulaires hyperplasiés sont généralement disposés en travées ou cordons séparés par un tissu conjonctif dense où circulent de nombreux capillaires. Il est à noter que parfois les cellules se groupent en îlots qui prennent une structure pseudo-acineuse.

Ces constatations nous font considérer cette tumeur comme étant une dysplasie intestinale à type d'hamartome puisque les différents éléments cellulaires constitutifs de l'épithélium intestinal se trouveraient représentés bien que très fortement remaniés.

e. Numération des cellules de Paneth.

Comme chez la Souris, nous avons effectué une évaluation du nombre de cryptes de Lieberkühn possédant des cellules de Paneth granulaires par rapport au nombre total de glandes, selon les différents étages de l'intestin grêle considérés.

Nous rapportons ci-dessous la moyenne des résultats :

Hamster : 10 animaux	Etage de prélèvement	Taux de charge granulaire
Duodénum	Zone pré-pylorique à 3cm du pylore	0,000 0,101 + 0,084
Jéjunum	1/3 supérieur 1/3 médian 1/3 inférieur	0,284 + 0,123 0,564 + 0,098 0,660 + 0,036
Iléon	à 3 cm du coecum	0,611 + 0,028

L'histogramme en fonction de l'étage intestinal considéré a été établi (fig. 1)

Nous avons ainsi constaté que la répartition des glandes de Lieberkühn à cellules de Paneth granulaires est, chez le Hamster, sensiblement identique à celle qui existe chez la Souris. Notons toutefois que le maximum de charge granulaire est reporté plus bas, dans la zone terminale du jéjunum. La variabilité du taux de charge granulaire, en particulier au niveau de la partie basse du jéjunum est moins importante que chez la Souris.

C. Morphologie de la cellule de Paneth chez le Rat.

(fig. 5)

a. Variabilité de structure.

Comme chez la Souris, la forme des cellules de Paneth est variable selon la portion de l'intestin grêle considérée. Au niveau du duodénum les cellules sont pyramidales hautes, presque cylindriques, à pôle apical étroit. Elles mesurent 15 à 20 μ de hauteur. Elles acquièrent un aspect pyramidal bas au niveau de l'iléon (10 à 15 μ de hauteur).

L'aspect de la charge granulaire se modifie également. Les grains sont de petite taille et strictement accumulés dans l'apex cellulaire au niveau du duodénum. Au contraire, dans la zone basse du jéjunum mais sur-

tout dans l'iléon, la charge granulaire déborde largement le 1/3 supérieur de la cellule pour venir combler le 1/3 médian et les espaces latéro-nucléaires. Les grains sont de taille variable (de 0,8 à 1,5 μ de diamètre). Leur aspect est très particulier ; entourés par une membrane limitante, ils sont optiquement vides ; leur contenu protéique n'est représenté que par un petit granule fortement fuchsinophile plus ou moins excentré au sein du grain de zymogène. La microscopie électronique confirme d'ailleurs un tel aspect.

b. Variabilité du nombre de cellules de Paneth.

Dans le duodénum et la première moitié du jéjunum les cellules sont peu nombreuses et on ne peut en dénombrer que 1 à 2 par coupes longitudinales de fond de glande de Lieberkühn. Dans la partie basse de l'intestin grêle le nombre des cellules de Paneth s'accroît (5 à 7 cellules). Chaque fond de crypte intestinale acquiert alors l'aspect d'un acinus glandulaire.

c. Variabilité de position.

Les cellules de Paneth sont exclusivement situées au fond des glandes de Lieberkühn. Nous n'avons jamais observé chez le Rat des cellules de Paneth en position ectopique au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle.

d. Numération des cellules de Paneth.

L'évaluation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth en fonction de l'étage intestinal est résumé dans le tableau ci-dessous :

Rat : 10 animaux	Etage du prélèvement	Taux de charge granulaire
Duodénum	Zone pré-pylorique	0,104 + 0,026
	à 3cm du pylore	0,114 + 0,028
Jéjunum	1/3 supérieur	0,144 + 0,105
	1/3 médian	0,342 + 0,160
	1/3 inférieur	0,600 + 0,060
Iléon	à 3cm du coecum	0,860 + 0,036

A l'observation de l'histogramme de la figure I, nous constatons que la charge granulaire est peu importante dans la première portion de l'intestin grêle. Elle augmente rapidement dans la zone basse du jéjunum et devient très importante dans l'iléon.

D. Morphologie de la cellule de Paneth chez le Cobaye.

(fig. 6)

a. Variabilité de structure.

La taille et la forme des cellules de Paneth varient peu selon la portion de l'intestin grêle considérée. Les cellules de Paneth sont pyramidales et mesurent 10 à 15 μ de hauteur dans la partie supérieure de l'intestin. Leur pôle basal est plus élargi dans la zone jéjuno-iléale.

Les grains de zymogène sont strictement apexiens, de taille régulière et n'excédant pas 1 μ de diamètre. Nous avons été surpris par l'importance de la charge zymogénique dans les premiers segments duodénaux. Nous avons pu observer la présence d'une synthèse zymogénique golgienne à ce niveau même chez l'animal à jeun. En outre, le nombre des cellules endocrines (à charge granulo-basale) est considérable.

Dans la partie terminale de l'iléon il faut signaler l'aspect modifié des cellules de Paneth ; intercalées entre des cellules caliciformes, elles sont déformées et les grains de zymogène ont un aspect pulvérulant, à la limite de la visibilité en microscopie optique.

b. Variabilité du nombre des cellules de Paneth.

Le nombre des cellules de Paneth est de trois à quatre par fond de glandes de Lieberkühn au niveau du duodénum et du jéjunum. Dans l'iléon leur nombre diminue rapidement. Dans la zone juxta-coecale elles sont rarement présentes. En effet, chez le Cobaye, dans la partie terminale de l'iléon le nombre des cellules caliciformes est considérable ; la structure de la glande de Lieberkühn acquiert un aspect de type colique.

c. Variabilité de position.

Les cellules de Paneth chez le Cobaye sont strictement localisées au niveau des fonds de glandes. Exceptionnellement on peut observer, sur

les murs latéraux de la glande, des cellules "intermédiaires". Il s'agit de cellules du type caliciforme, mais possédant au sein du gobelet muqueux quelques granules fortement fuchsinophiles et sphériques comparables aux grains de zymogène de la cellule de Paneth.

d. Numération et évaluation du taux de charge granulaire.

La variabilité du taux de charge granulaire des cellules de Paneth est résumée dans le tableau ci-dessous et l'histogramme de la figure I.

Cobaye : 10 animaux	Etage de prélèvement	Taux de charge granulaire
Duodénum	Zone pré-pylorique	$0,670 \pm 0,042$
	à 3cm du pylore	$0,542 \pm 0,073$
Jéjunum	1/3 supérieur	$0,346 \pm 0,052$
	1/3 médian	$0,354 \pm 0,017$
	1/3 inférieur	$0,288 \pm 0,056$
Iléon	à 3cm du coecum	$0,098 \pm 0,051$

La répartition de la charge zymogénique est très différente de celle observée dans d'autres espèces. Le taux de charge est en effet très élevé dans la première partie du duodénum, diminue dans le jéjunum, est très faible dans l'iléon.

E. Morphologie de la cellule de Paneth chez d'autres espèces animales.

Nous avons cherché à visualiser la cellule de Paneth chez d'autres espèces animales. En accord avec la littérature, nous n'avons jamais retrouvé cet élément cellulaire, ou des équivalents, chez les Oiseaux (cf. chapitre I-B).

Les cellules de Paneth sont également absentes chez le Chien et le Chat, toutefois, chez le Chat, le fond des glandes de Lieberkühn est

constitué par des cellules pyramidales à noyau basal ; cependant le pôle apical ne contient pas de granules acidophiles. Mais la microscopie électronique visualise au sein de ce type cellulaire des grains apexiens envacuolés, peu denses aux électrons, de petite taille ($0,1 \mu$ de diamètre) qui semblent être émis dans la lumière de la glande intestinale. Une étude plus approfondie de ces éléments devrait donc être entreprise.

Nous avons également effectué des prélèvements de l'intestin grêle chez d'autres animaux.

Chez les Poissons, l'Anguille possède des cellules de Paneth ; la Truite en est dépourvue.

Le Hérisson possède un contingent très important en cellules de Paneth qui semble uniformément réparti dans la totalité du jéjuno-iléon. Les grains sont volumineux ; la charge apexienne est considérable et déborde dans les espaces latéro-nucléaires. L'observation des cellules de Paneth sur des animaux capturés à différentes époques semble évoquer une variabilité saisonnière de la charge zymogénique (maximale au printemps, minimale en été). Toutefois nous ne pouvons conclure car les délais ont été variables entre le moment de la capture et le sacrifice des animaux.

Nous avons également observé deux variétés de Lagomorphes : le Lapin et l'Ochotone Afghan. L'aspect et la répartition de la charge granulaire des cellules de Paneth chez l'Ochotone est semblable à celle observée chez le Hamster. Chez le Lapin nous avons été surpris par les caractères des grains de sécrétion : ils sont peu nombreux, de petite taille ; ils ont une faible affinité pour les colorants acides tels que la fuchsine ou l'orange G.

Chez l'Homme, l'observation de biopsies jéjunales et duodénales, nous a permis de confirmer la présence de cet élément cellulaire. Les cellules de Paneth sont peu nombreuses dans la première partie du duodénum (2 à 3 par fond de glande) ; leur nombre augmente en progressant dans le jéjunum (5 à 7 par fond de glande). Les grains apexiens sont très fuchsinophiles, de petite taille (1μ de diamètre), très nombreux.

III. CONCLUSIONS

1°) La cellule de Paneth semble être largement répandue dans le règne animal. En effet, en accord avec la littérature (cf. chapitre I-B) et nos propres observations, seuls les Carnivores et les Oiseaux en seraient dépourvus.

2°) Quelle que soit l'espèce animale observée, l'aspect cytologique est pratiquement identique. Le diamètre du grain peut cependant varier, ainsi que l'importance de la charge zymogénique apexienne.

3°) Le nombre des cellules de Paneth formant le fond des glandes de Lieberkühn augmente du duodénum vers l'iléon. C'est au niveau de l'iléon et de la partie basse du jéjunum que le taux de charge granulaire des cellules de Paneth est à son maximum. Morphologiquement, le développement de ce type cellulaire paraît donc être en relation avec l'éloignement progressif des glandes séreuses sus-jacentes et en particulier du pancréas.

Le Cobaye représente toutefois une exception puisque le taux de charge granulaire est à son maximum dans la première partie du duodénum. Il est vrai que, chez cet animal, le canal pancréatique principal s'abouche très bas dans l'intestin grêle, dans la partie terminale du duodénum. Les cellules de Paneth duodénales sont ainsi situées en amont du déversement du suc pancréatique dans la lumière intestinale.

4°) Un problème particulier est posé par les cellules de Paneth en position hétérotypique.

Lorsqu'il s'agit de cellules de Paneth conservant tous les caractères morphologiques de cet élément séreux, nous considérons alors qu'ils s'agit d'une simple inversion accidentelle de la polarité de différenciation de l'épithélium intestinal. Cette hypothèse est d'autant plus vraisemblable si on admet, avec THROUGHTON et TRIER (1969), que la cellule de Paneth dérive des cellules indifférenciées (fréquemment en mitose : fig. 3a) du tiers inférieur des murs latéraux de la glande de Lieberkühn.

Un problème plus difficile est posé par les cellules "intermédiaires" décrites également chez la Souris par THROUGHTON et TRIER et plus anciennement observées par PARAT (1923). Ces cellules possèdent à la fois les caractéristiques morphologiques de la cellule de Paneth (en particulier la présence de grains de zymogène séreux) mais également de la cellule caliciforme (présence d'un gobelet muqueux). S'agit-il d'une entité cellulaire propre à l'épithélium intestinal ? S'agit-il d'une viciation du processus de maturation et de différenciation cellulaire (nous avons en effet retrouvé ce type cellulaire dans un hamartome chez le Hamster) ? Il nous paraît prématuré de donner une réponse. Mais, toutefois, l'existence des hétérotypies et des cellules intermédiaires semble bien confirmer l'origine commune des différents types cellulaires de l'épithélium intestinal dans les cellules indifférenciées situées dans la zone basse de la glande de Lieberkühn.

- Figure 1 :

Histogrammes comparatifs du taux de charge granulaire des cellules de Paneth en fonction du niveau de l'intestin chez la Souris (1), le Hamster (2), le Rat (3), le Cobaye (4).

- a) Duodénum juxta-pylorique
- b) Duodénum à 3 cm du pylore
- c) 1/3 supérieur du jéjunum
- d) 1/3 médian du jéjunum
- e) 1/3 inférieur du jéjunum
- f) Iléon à 3 cm du coecum

- Figure 2 :

- a) Aspect des cellules de Paneth au niveau du duodénum chez la Souris.
Coloration : Hémalum - Fuchsine - Vert lumière - technique personnelle.
Grossissement : x 625
- b) Aspect des cellules de Paneth au niveau du jéjunum chez la Souris.
Coloration : Hémalum - Fuchsine - Vert lumière ; technique personnelle.
Grossissement : x 625
- c) Aspect des cellules de Paneth au niveau de l'iléon chez la Souris.
Coloration : Hémalum - Fuchsine - Vert lumière ; technique personnelle.
Grossissement : x 625
- d) Fond de glande de Lieberkühn jéjunale et cellules de Paneth chez le Hamster.
Coloration : Hémalum - Fuchsine - Vert lumière ; technique personnelle.
Grossissement : x 625
- e) Cellules de Paneth du fond de la glande de Lieberkühn chez le Hamster au niveau du jéjunum. Tissu frais ; coupe à congélation ; contraste interférentiel (Nomarsky).

Grossissement : x 1050

- Figure 3 :

a) Zone terminale du jéjunum chez la Souris.

P : Cellules de Paneth

M : Mitose

CI : Cellule "intermédiaire"

Coloration : Hémalum - Fuchsine - Vert lumière ; technique personnelle.

Grossissement : x 1000

b) Fond de glande de Lieberkühn jéjunale et cellules de Paneth chez le Hamster.

Coloration : Hémalum - Fuchsine - Vert lumière ; technique personnelle.

Grossissement : x 625

c et d) Cellules de Paneth au niveau du duodénum chez le Hamster.

A : cul de sac de la glande de Lieberkühn.

B : Acinus de la glande de Brünner.

Les flèches montrent les cellules de Paneth.

Coloration : Trichrome de GABE et MARTOJA.

Grossissement : x 625

- Figure 4 :

a) Cellule de Paneth hétérotypique chez le Hamster.

Coloration : Hémalum - Fuchsine - Vert lumière ; technique personnelle.

Grossissement : x 625

b) Cellule "mixte" chez le Hamster, située à la base d'une villosité jéjunale.

Coloration : A.P.S. Trichrome de GABE et MARTOJA.

Grossissement : x 800

c) Cellules "mixtes" chez le Hamster, bordant la lumière glandulaire jéjunale.

Coloration : trichrome de GABE et MARTOJA.

Grossissement : x 1250

d) Hamartome intestinal

1 : cellule indifférenciée

2 : cellule muqueuse

3 : cellule à grains séreux

4 : cellule mixte muco-séreuse

Coloration : technique de Mallory

Grossissement : x 625.

- Figure 5 :

Aspect des cellules de Paneth chez le Rat.

a) Au niveau du duodénum

b) Niveau du jéjunum

c) Au niveau de l'iléon

Coloration : technique de Mallory - Cason x 625

- Figure 6 :

Aspect des cellules de Paneth chez le Cobaye.

a) Au niveau du duodénum

b) Au niveau du jéjunum

c) Au niveau de l'iléon

Coloration : technique de Mallory - Cason x 625

FIGURE 1

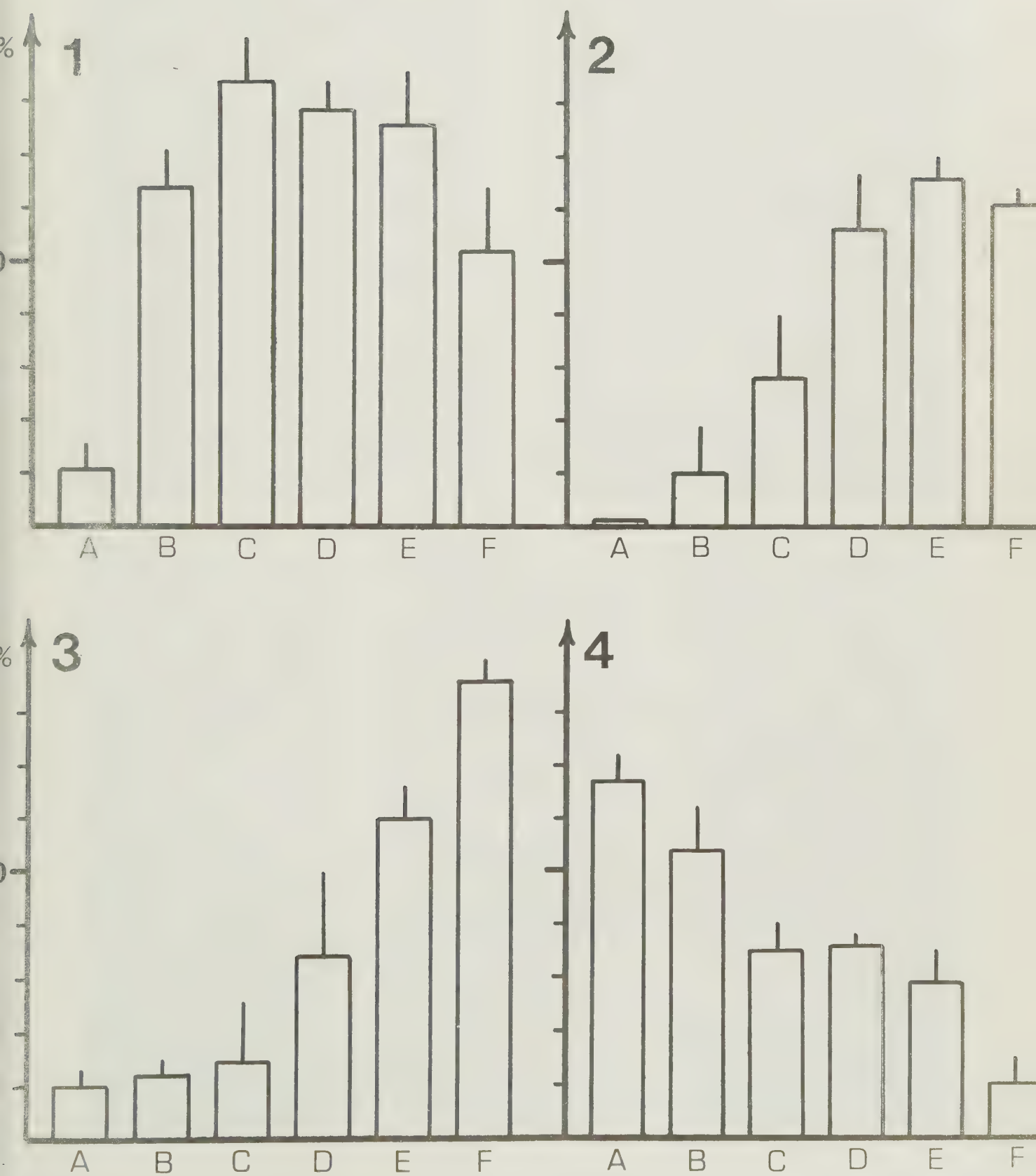


FIGURE 2

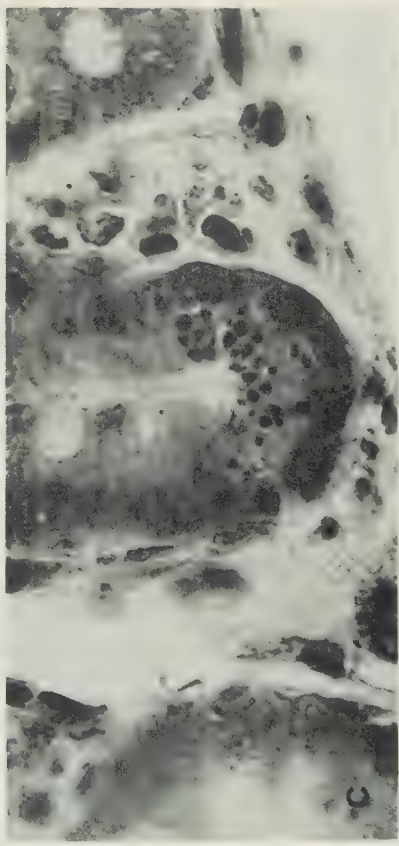
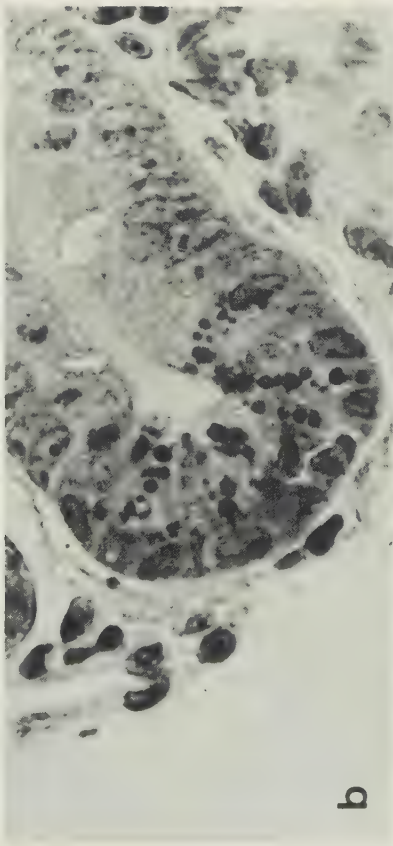
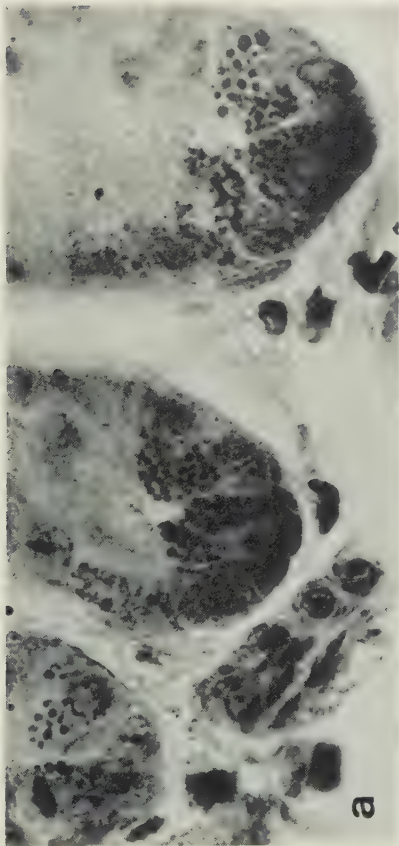
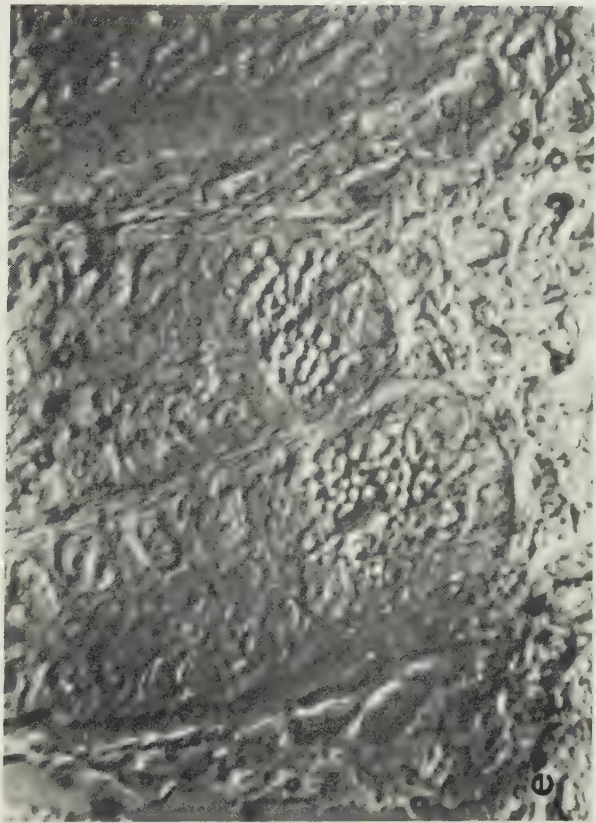
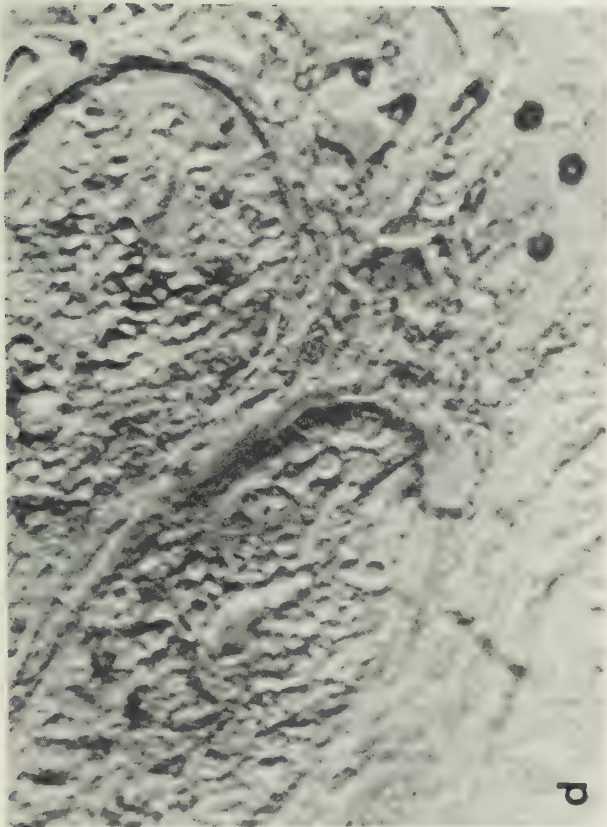
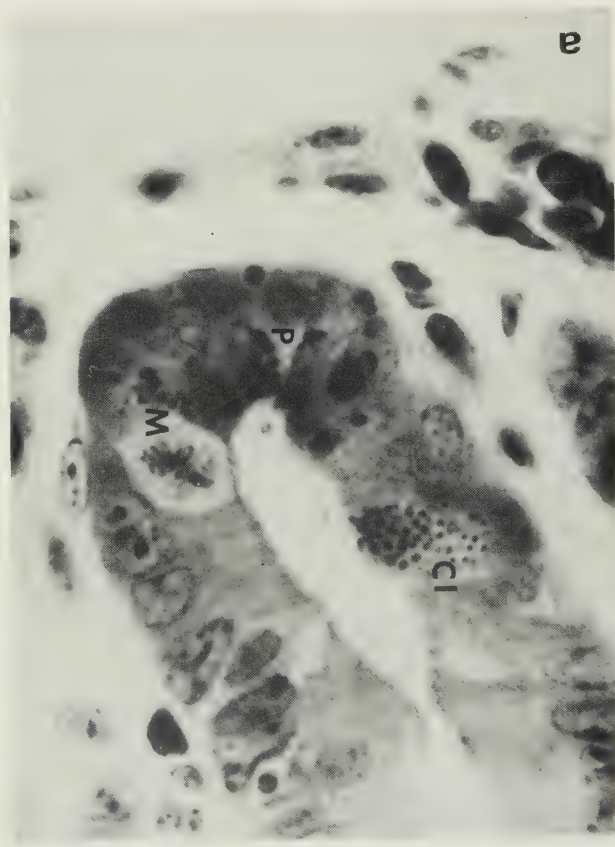
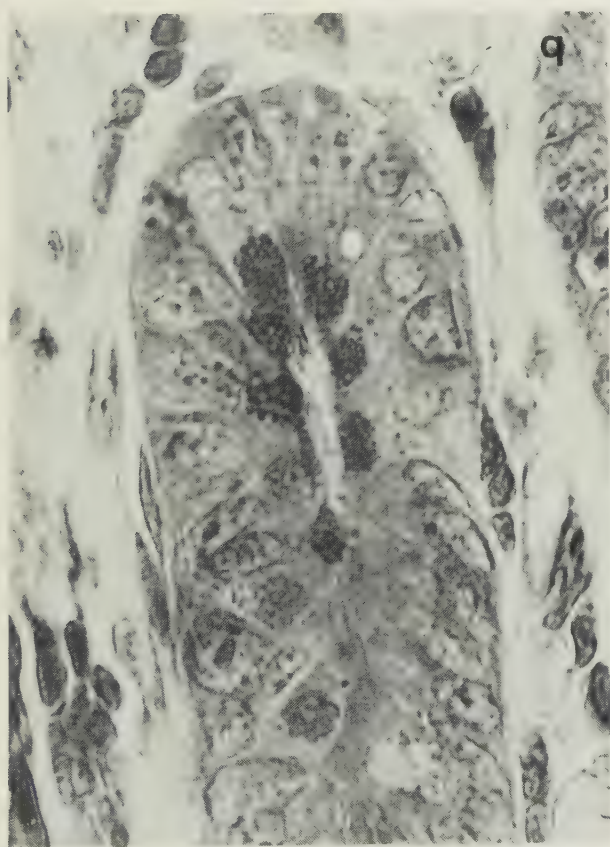
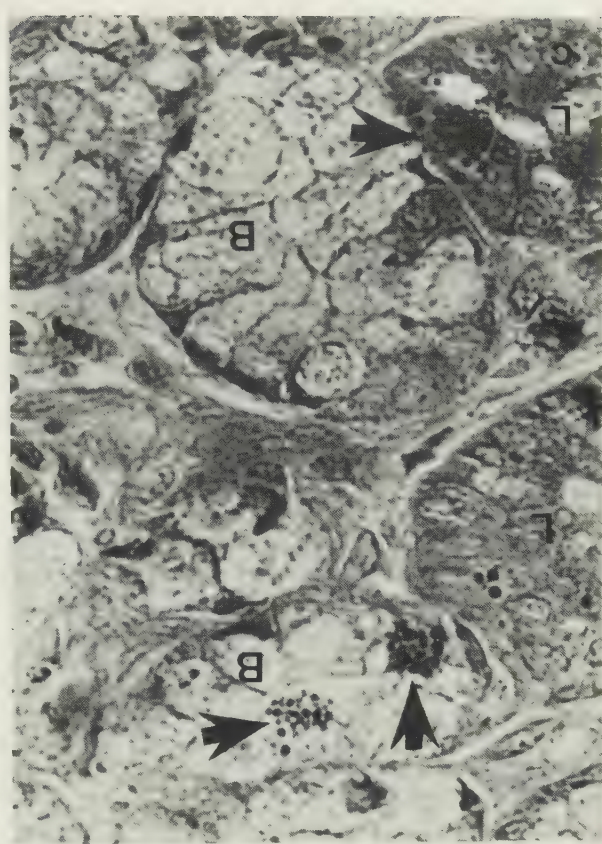
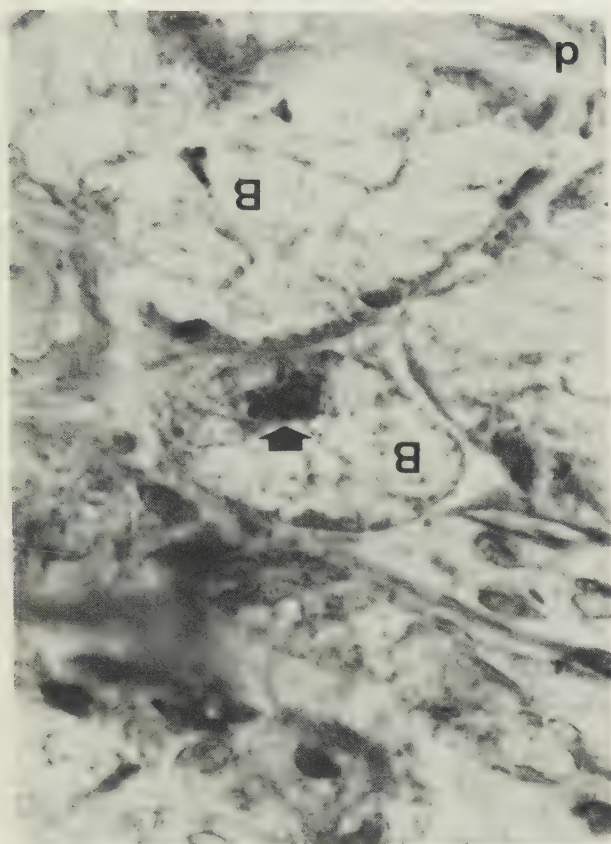
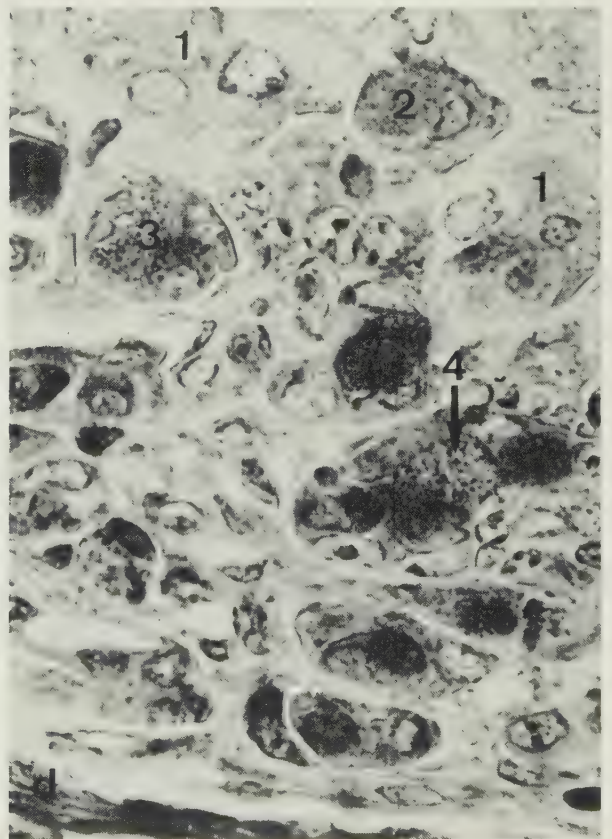
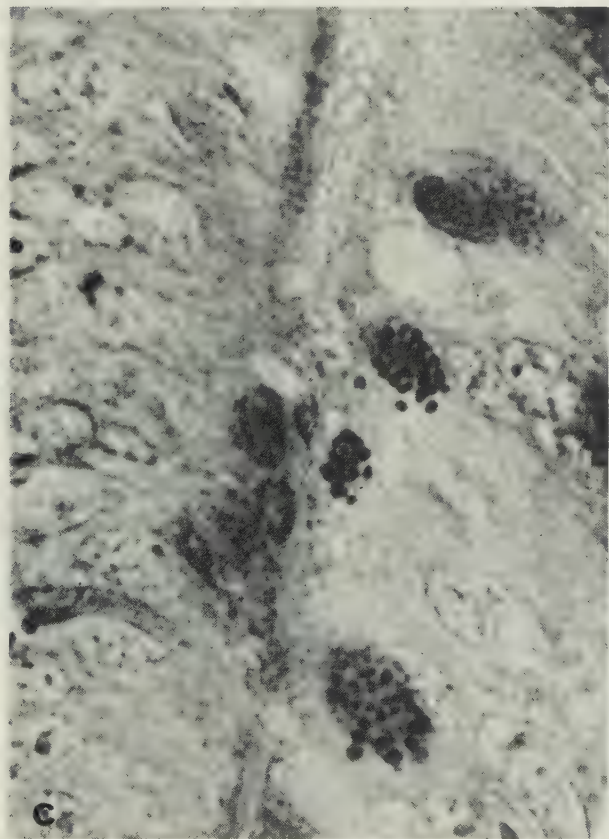
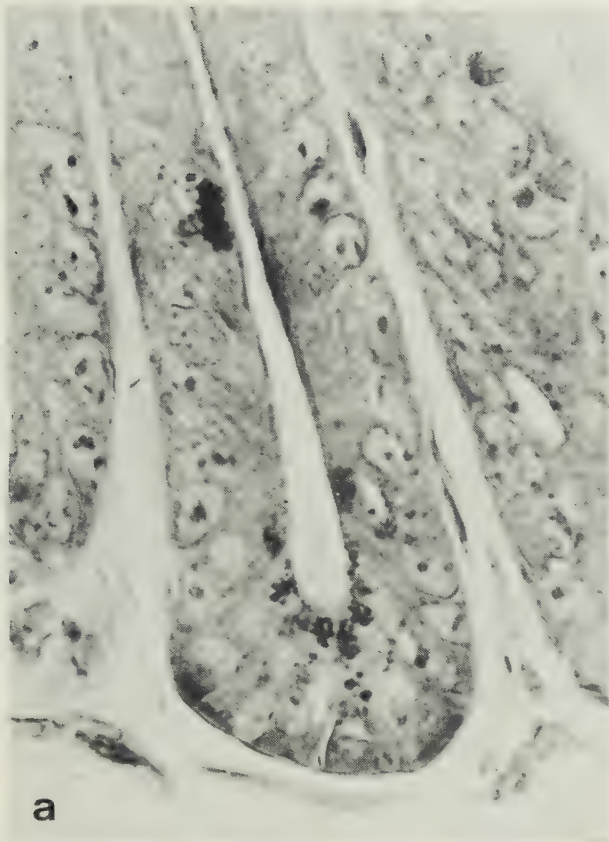
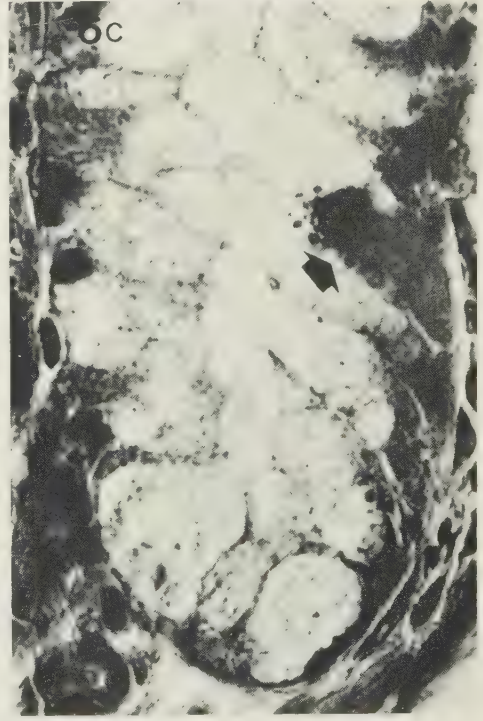
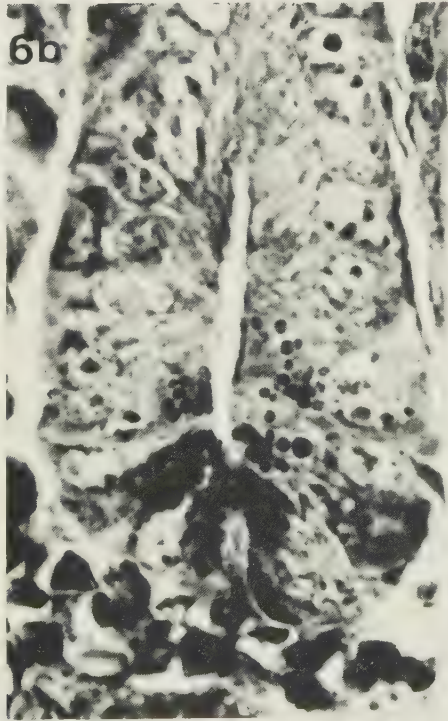
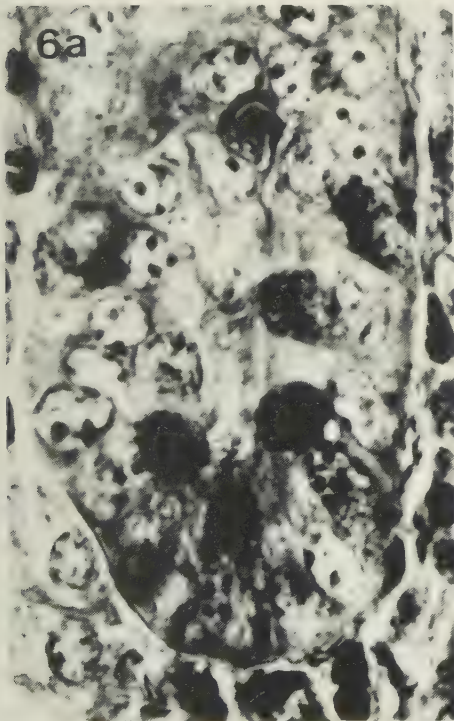


FIGURE 3





FIGURES 5 ET 6



CHAPITRE III - B

ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA
CELLULE DE PANETH CHEZ LE
HAMSTER

ETUDE ULTRASTRUCTURALE DE LA CELLULE DE PANETH CHEZ LE HAMSTER

La cellule de Paneth est actuellement bien connue sur le plan ultra-structural chez de nombreuses espèces animales (cf chapitre IB : Rappel de nos connaissances actuelles).

Cependant, à notre connaissance, la cellule de Paneth chez le hamster n'a fait l'objet d'aucun travail en microscopie électronique.

Ayant choisi cet animal comme matériel principal d'expérimentation sur le plan histo-physiologique nous avons entrepris cette étude.

I - MATERIEL ET TECHNIQUES

Sur des hamster âgés de 3 mois, soumis à une diète hydrique depuis 48 heures, nous avons réalisé des prélèvements au niveau du 1/3 inférieur du jéjunum. Ils ont été traités selon une technique courante (cf chapitre II : Matériel et Techniques).

II - OBSERVATION

Dans son ensemble la cellule de Paneth du hamster est comparable aux descriptions antérieures effectuées chez d'autres espèces (HALLY - 1958, BEHNKE et al. - 1963, TRIER et Coll - 1967).

Comme nous l'avions déjà signalé en microscopie optique, le nombre de cellules de Paneth en bordure de la lumière glandulaire de la muqueuse jéjunale est très important ; les cellules sont généralement très hautes (en moyenne 10 à 20 μ), ce qui interdit presque toujours de visualiser sur le même trou de grille la totalité de la cellule malgré l'utilisation de grilles à 200 trous (Planche I).

Rarement adjacentes pour former le fond de la glande de Lieberkühn, les cellules de Paneth sont généralement séparées par une cellule indifférenciée dont le pôle apical est très étroit et effilé (Planches I et II).

A) LA CELLULE DE PANETH

1 - La membrane cellulaire :

Dans son ensemble, sa structure est banale. Latéralement en contact avec la cellule indifférenciée, la membrane plasmique de la cellule de Paneth présente de nombreux desmosomes typiques (figures 1 et 3). On note également la présence de quelques interdigitations simples à type de tenon-mortaise ; elles sont plus fréquentes dans la zone sous nucléaire où elles forment des enchevêtrements souvent plus complexes.

La cellule de Paneth repose sur une basale continue. Il est à remarquer qu'il existe de nombreuses interdigitations des pieds des cellules adjacentes. Il s'agit de très longues expansions cytoplasmiques enchevêtrées sans formations desmosomiques, souvent parallèles à la membrane basale. De ce fait, il est parfois difficile de suivre dans la zone inférieure de l'épithélium de recouvrement du fond de la glande de Lieberkühn les limites inter-cellulaires.

Nous n'avons jamais visualisé de terminaisons nerveuses sur les éléments cellulaires constituant le cul de sac glandulaire, bien que la présence de sections transversales de nerfs amyéliniques soit très fréquente sur le versant chorionique de la membrane basale.

Le pôle apical de la cellule de Paneth est particulier chez le Hamster. Il peut ne présenter que quelques micro-villosités, courtes, irrég-

gulières, non rectilignes (comme dans la plupart des espèces déjà observées en microscopie électronique). Mais le plus souvent le pôle apical de la cellule de Paneth présente une structure presque comparable à une bordure en brosse. En effet l'abondance des micro-villosités est considérable ; elles sont longues (0,5 à 1 μ), rectilignes, souvent parallèles. Dans cette zone la membrane plasmique s'épaissit ; elle est formée par trois feuillets accolés, recouverts à l'extérieur par un tapis fibrillaire continu apparenté au glycocalix des entérocytes.

L'axe villositaire contient de nombreux micro-filaments axiaux non organisés, se prolongeant au niveau du pôle apical de la cellule où ils disparaissent dans une zone de densification hyaloplasmique où aucune inclusion intra-cytoplasmique ne pénètre. L'apex est limité en périphérie par une zonula adhérens circonférentielle (figures 3 et 4).

Chez l'animal à jeun, les grains de zymogène restent le plus souvent à distance de la zone villositaire (figures 1 et 4).

Etant donné la différenciation du pôle apical, nous n'avons pas été surpris par la présence de nombreuses vacuoles de pinocytose. La plupart des vacuoles sont de petite taille, n'excédant pas 1000 Å de diamètre (figure 4); mais nous avons également noté la présence de vacuoles beaucoup plus volumineuses, de forme irrégulière, limitées par une membrane plasmique mince et communiquant avec l'espace inter-villositaire par un mince canalicule plasmique plus ou moins rectiligne (figure 2).

2 - Les grains de sécrétion :

Chez le Hamster, après 48 heures de jeûne, les grains de sécrétion de la cellule de Paneth sont strictement accumulés dans l'apex cellulaire. On peut en dénombrer une quinzaine dans chaque cellule, presque jointifs mais ménageant cependant des espaces triangulaires cytoplasmiques constitués essentiellement par le hyaloplasme; des vacuoles diverses, des tonofilaments et des micro-tubules (figure 3).

Comme dans toutes les autres espèces, les grains sont strictement

sphériques, leur taille est légèrement variable mais ne dépasse pas 1 μ de diamètre. Le grain est limité en périphérie par une membrane plasmique continue. Un très mince espace clair (150 Å) sépare la membrane de son contenu. Le contenu granulaire, dense et très opaque aux électrons, est parfaitement homogène. L'absence d'un halo clair périphérique est à noter, même après fixation directe par le tétroxyde d'osmium.

3 - Le noyau :

Situé au tiers basal de l'élément, le noyau de la cellule de Paneth présente les mêmes caractéristiques que dans d'autres espèces déjà décrites. Il est dense, nucléolé, à contours irréguliers, souvent encoché par des invaginations de la membrane nucléaire. Nous avons parfois noté des connections entre la membrane nucléaire et les feuilletts ergastoplasmiques. La présence d'une hétéro-chromatine dense périphérique traduit l'activité de synthèse de cette cellule.

4 - L'ergastoplasme :

Occupant la totalité de l'espace sous-nucléaire, les feuilletts ergastoplasmiques remontent le long des parois latérales de la cellule (figures 1 et 2) ; le nombre et la régularité du parallélisme des sacs ergastoplasmiques est remarquable.

Il existe une grande abondance de ribosomes libres dans le hyaloplasme cellulaire ; mais leur nombre diminue dans la zone des grains de sécrétion pour disparaître dans l'apex (figure 3).

Les sacs ergastoplasmiques possèdent un contenu modérément dense, finement granuleux qui représente, probablement, le produit de synthèse primaire de la cellule. D'ailleurs les extrémités borgnes des sacs ergastoplasmiques paraissent se renfler et entrent en connexion avec la face externe des dictyosomes de l'appareil de Golgi.

Dans certaines cellules de Paneth l'ergastoplasme perd la disposition classique du type cellulaire séreux ; occupant les 2/3 inférieurs de la cellule, il prend un aspect vacuolaire, formant parfois de volumineuses vési-

cules anastomosées contenant un matériel clair et finement granuleux. Corrélativement, l'appareil de Golgi est alors peu représenté (jeunes cellules de Paneth encore en voie de différenciation ?).

5 - *L'appareil de Golgi :*

Généralement, l'appareil de Golgi occupe une place importante dans la cellule de Paneth ; situé immédiatement au dessus du noyau il a une forme discoïdale. Il est constitué par de nombreux dictyosomes périphériques émettant de nombreuses vésicules à leur extrémité ou vers le centre de l'appareil qui contient de nombreuses vésicules et des vacuoles de condensation (figure 5). Les vacuoles de condensation sont de taille variable. Certaines deviennent volumineuses ; primitivement irrégulières, elles prennent un aspect sphérique et se chargent d'un contenu de plus en plus dense.

Un dispositif centrosomique est souvent visible entre la zone des grains et l'appareil de Golgi (figure 6). Il est en connexion avec les microtubules.

6 - *Les mitochondries :*

Nous n'avons pas remarqué de caractéristique particulière au niveau de ces organites cellulaires. Elles sont plus nombreuses dans l'étage sous-nucléaire.

7 - *Les lysosomes :*

A proximité de la zone golgienne mais également dans l'étage sous-nucléaire, nous avons observé des organites arrondis, limités par une membrane plasmique mince dont la taille varie entre 0,2 μ et 0,4 μ (figure 9). Le contenu de ces éléments est homogène, dense aux électrons ; on note parfois la présence d'un amas granulaire plus condensé et souvent excentré pour ceux de taille réduite. Nous assimilons ces organites à des lysosomes de type primaire.

Ces organites sont en nombre restreint. L'existence des lysosomes de type secondaire sera discutée à propos des inclusions intra-cytoplasmique non systématisées.

8 - Autres organites intra-cytoplasmiques :

Nous avons rencontré, dans la cellule de Paneth du Hamster, un nombre important d'inclusions intra-cytoplasmiques dont l'origine et la systématisation est parfois difficile à établir.

a) : LES MICRO-TUBULES :

Leur nombre est considérable dans l'étage sus-nucléaire de la cellule. Ils sont plus particulièrement abondants le long des parois latérales de la cellule (figure 3) mais également dans la zone golgienne (en périphérie des dictyosomes comme au sein même de la zone vacuolaire golgienne.

Les micro-tubules sont souvent groupés et sont toujours disposés selon une orientation axiale dans la cellule. Ils sont en relation avec les centrioles (figure 6).

b) : LES TONO-FILAMENTS :

Ces éléments sont très abondants dans la cellule de Paneth chez le Hamster. En dehors des tono-fibrilles en relation avec l'axe des micro-villosités (figure 4), des tonofilaments, groupés en faisceaux plus ou moins massifs, se rencontrent dans la totalité de la cellule, y compris dans l'étage sous-nucléaire. En opposition avec les dispositifs micro-tubulaires nous n'avons pas noté une orientation préférentielle des faisceaux (figure 7).

c) : "MULTI-VESICULAR BODIES" (M.V.B.) :

Nous les avons rencontrés soit au niveau du pôle apical de la cellule de Paneth, soit au voisinage de l'appareil de Golgi et plus particulièrement en périphérie des saccules dictyosomiques (figure 7). Mesurant $0,25 \mu$ de diamètre, ils sont limités par une membrane à triple feuillet de $80 \text{ \AA}$ d'épaisseur et contiennent un grand nombre de petites vésicules de $250 \text{ \AA}$ de diamètre entourées par une fine membrane plasmique.

Les M.V.B. sont rares dans la cellule de Paneth ; par contre, nous les avons observés avec une particulière fréquence dans les cellules indifférenciées adjacentes ou dans les cellules de Paneth en voie de maturation (voir chapitre III - D, figure 2).

d) : VESICULES A TRIPLE FEUILLET :

Très nombreuses dans la zone golgienne, nous avons également visualisé ces vésicules dans l'apex cellulaire. Elles s'insinuent entre les grains de sécrétion.

Ces vésicules de 0,2 μ de diamètre sont limitées par une membrane à triple feuillet (deux feuillets denses périphériques, un feuillet clair médian) mesurant 120 Å d'épaisseur. Le contenu vésiculaire est filamenteux ou finement granuleux. Leur revêtement externe est lisse (figures 5 et 8). Elles peuvent fusionner avec les vacuoles de condensation de la zone centrale de l'appareil de Golgi. Il existe également des vésicules, de plus petite taille, dont le revêtement externe est de type fibreux ("Coated Vésicles") ; elles sont uniquement localisées dans la zone golgienne et semblent issues des extrémités dilatées des saccules dictyosomiques (figure 7).

e) : ENCLAVES PLASMIQUES :

Sans systématisation particulière, on observe dans la cellule de Paneth du Hamster des enclaves formées par des feuillets plasmiqes simples et concentriques limitant des enclaves cytoplasmiques plus ou moins importantes.

La taille de ces formations, ainsi que le nombre de feuillets sont variables. Nous considérons ces enclaves comme correspondant à des sections transversales des interdigitations complexes de la membrane plasmique de la cellule (figure 7).

f) : AUTRES INCLUSIONS INTRA-CYTOPLASMIQUES :

Elles sont nombreuses et il paraît difficile d'en donner une description univoque. Toutefois, en schématisant à l'extrême, nous les classons en deux groupes descriptifs ; des formations myéliniques et des organites poly-envacuolés.

1 - FORMATIONS MYELINIQUES ;

Il s'agit d'organites mesurant, en moyenne, 1 μ de diamètre, arrondis ou ovalaires, limités par une membrane plasmique simple, contenant, dans une matrix de faible densité aux électrons, des lamelles myéliniques continues, enroulées en spirales imparfaites. Chaque lamelle est constituée par un triple feuillet de 80 Å d'épaisseur (20 Å pour les feuillets interne et externe, 40 Å pour le feuillet médian), séparé de la lamelle adjacente par un espace de 100 à 200 Å (figure 9).

2 - FORMATIONS POLY-ENVACUOLEES :

Ce sont des organites de 1 μ de diamètre, limités par une membrane plasmique mince et contenant, dans une matrix dense, trois ou quatre formations arrondies de 0,5 μ à 1 μ de diamètre. Le contenu de ces éléments est hétérogène (figure 9).

B) CELLULES ATYPIQUES :

Comme en microscopie optique, nous avons observé en microscopie électronique des cellules que leur morphologie ne permet pas de classer parmi les cinq groupes classiques constituant l'épithélium de revêtement de la glande de Lieberkühn : cellule de Paneth, cellule caliciforme, cellule endocrine, entérocyte, cellule indifférenciée.

Certaines, haut situées dans la glande, ressemblent à des cellules de Paneth. Le noyau est basal, encoché ; le cytoplasme contient un réticulum granulaire abondant, un appareil de Golgi volumineux qui semble par son centre être à l'origine de la formation des grains. Mais cet élément diffère de la cellule de Paneth précédemment décrite par un pôle apical plus élargie et des grains remaniés. En effet les grains occupent un apex moins étroit ; s'ils sont sphériques lors de leur élaboration au niveau de l'appareil de Golgi et de leur ascension dans l'étage supérieur de la cellule, certains d'entre eux ont tendance à subir des déformations au contact des grains voisins lors de leur accumulation au pôle apical. Les grains sont cependant limités par une membrane plasmique mince ; leur contenu, dense, homogène et très opaque aux électrons, semble de nature protidique (figure 10).

Mais c'est une autre forme d'atypie cellulaire qui nous a plus particulièrement retenu. Il s'agit d'éléments situés à proximité du fond de la glande de Lieberkuhn, séparé des cellules de Paneth par deux ou trois cellules indifférenciées ou en voie de différenciation.

Ces éléments sont, dans leur structure, comparable à une cellule caliciforme. Le gobelet muqueux est occupé, dans ces 2/3 inférieurs, par des grains de mucus typiques, coalescents, de taille variable, déformés par contact avec les grains adjacents, limités par une fine membrane qui disparaît parfois,

unissant ainsi deux grains muqueux contigus. Il n'existe pas d'espace cytoplasmique entre les grains, excepté une mince lame de cytoplasme en contact avec la membrane cellulaire. Comme dans la plupart des cellules caliciformes le nombre des micro-villosités du pôle apical est réduit. Mais cet élément diffère de la cellule caliciforme proprement dite par la structure du tiers supérieur du gobelet muqueux. Les grains muqueux disparaissent le cytoplasme cellulaire réapparaît, riche en ribosomes, contenant quelques micro-vésicules. La particularité essentielle réside dans la présence de grains sécrétoires strictement sphériques, à contenu homogène, dense et très opaque aux électrons. Ces grains sont limités à leur périphérie par une fine membrane plasmique. Ils sont en fait comparables aux grains sécrétoires de la cellule de Paneth et n'en diffèrent que par un diamètre plus petit ($0,5 \mu$) ; au nombre d'une vingtaine au niveau de l'apex cellulaire, quelques grains de ce type sont encore enchassés au sein des granules muqueux supérieurs (figure 11). Dans d'autres cas, les grains séreux et les grains muqueux sont disposés au hasard au sein du cytoplasme apical d'une même cellule.

III - DISCUSSION :

1 - Le mode de sécrétion des grains :

D'après nos observations, l'élaboration des grains de sécrétion de la cellule de Paneth du Hamster serait identique à celle présentée par d'autres espèces animales. Nous pouvons schématiquement diviser la synthèse granulaire en trois étapes successives dans le temps : étape ergastoplasmique, étape golgienne, étape de maturation du grain.

ETAPE ERGASTOPLASMIQUE : Comme nous l'avons observé, le premier produit de synthèse semble être déversé dans la lumière des feuilletts ergastoplasmiques sous la forme d'une substance protidique peu opaque aux électrons. Nous n'avons jamais remarqué la présence de cristalloïdes précipités au niveau du réticulum granulaire.

Le réticulum granulaire prend parfois un aspect vacuolaire et dilaté chez l'animal à jeun depuis 48 heures. Cette disposition ne pouvant être attribuée à un artéfact de fixation ou d'osmolarité du tampon, nous l'interprétons :

- Soit comme une image de cellule de Paneth au repos, les précurseurs enzymatiques des grains étant stockés dans le réticulum granulaire qui prend ainsi un aspect vacuolaire.

- Soit comme la traduction d'un cycle sécrétoire ou les étapes de synthèse du grain seraient successives dans le temps. L'étape golgienne ne débutant qu'après stockage dans le réticulum des produits protidiques primaires.

ETAPE GOLGIENNE : Les extrémités des feuilletts ergastoplasmiques entrent en contact avec les dictyosomes de l'appareil de Golgi dans une zone immédiatement supérieure à l'espace latéro-nucléaire. Comme nous l'avons signalé, les extrémités des lames ergastoplasmiques paraissent se renfler et entrer en connexion avec les extrémités des dictyosomes périphériques sur leur face externe.

Ces images évoquent donc un transfert probable du matériel enzymatique primaire du réticulum granulaire vers l'appareil de Golgi. En effet les saccules du bord convexe des dictyosomes sont emplis par un matériel finement granuleux, peu dense aux électrons et comparable au contenu ergastoplasmique.

Les saccules dictyosomiques du bord concave se renflent, concentrent les produits intra-sacculaires et migrent dans la zone vacuolaire centrale de l'appareil de Golgi, où ils forment des vacuoles de condensation. Le matériel continuant à se concentrer, la vacuole devient progressivement circulaire ; le contenu, beaucoup plus dense, n'est pas encore totalement opaque aux électrons et semble constitué par de fins granules juxtaposés (figure 5). Ces vacuoles de condensation constituent la première ébauche du grain sécrétoire.

MATURATION DU GRAIN SECRETOIRE : Le grain primitif quitte ensuite le centre de la zone golgienne pour s'élever, à travers l'étage sus-nucléaire, vers l'apex de la cellule où il est alors stocké. Cette maturation est très rapide car le grain de sécrétion présente un aspect mature dès qu'il quitte la zone golgienne.

MODE DE SECRETION DES GRAINS DE LA CELLULE DE PANETH.

Le chapitre IV - B est consacré au mode d'excrétion de la cellule de Paneth.

Chez l'animal à jeun nous n'avons jamais pu surprendre d'image

d'élimination des grains. Toutefois, les volumineuses vacuoles apéxiennes s'ouvrant dans la lumière de la glande (figure 2) peuvent correspondre au reste de la membrane limitante du grain après rejet du matériel enzymatique à l'intérieur de la lumière glandulaire. S'il en est ainsi, la sécrétion de la cellule de Paneth se ferait selon un mode mérocrine, c'est-à-dire selon un processus commun aux autres cellules séreuses. Une telle image suggère une sécrétion basale continue de la cellule de Paneth (en accord avec les travaux de TRIER et Coll - 1969).

2 - Le rôle des différents organites cellulaires :

1° - M.V.B. ET VESICULES A TRIPLE FEUILLET :

Ces organites sont en abondance dans les cellules de Paneth en voie de différenciation.

Le rôle éventuel de tels organites nous paraît énigmatique. Mais les travaux de BONNEVILLE et WEINSTOCK (1970) permettent de suggérer l'attribution d'un rôle fonctionnel aux vésicules à triple feuillet et revêtement externe lisse. En effet ces auteurs ont montré que ces organites interviendraient dans la formation du pôle apical des cellules absorbantes de l'épithélium intestinal.

Nous avons également rencontré ce type vésiculaire dans des cellules de Paneth déjà totalement différenciées. Il ne serait donc pas impossible que la cellule de Paneth, même après sa différenciation, régénère son pôle apical. Cette hypothèse laisserait donc supposer que le pôle apical des cellules de Paneth est partiellement détruit au cours des processus sécrétoires de cet élément. D'ailleurs, le nombre des micro-villosités au pôle apical de la cellule est variable : elles sont peu nombreuses lorsque l'apex de la cellule, peu chargé en grains de sécrétion, semble avoir émis par exocytose son matériel zymogénique (cf chapitre IV A et B).

La décharge granulaire provoquerait donc une destructuration du sommet cellulaire nécessitant secondairement la restructuration des formations membranaires apicales. Cette hypothèse impliquerait le contrôle de la membrane apicale par le génome de la cellule, l'appareil de Golgi représentant l'intermédiaire de synthèse. Le rôle de ces vésicules sera discuté dans le chapitre IV - B.

Nous avons également observé dans la cellule de Paneth du Hamster des vésicules à triple feuillet recouvertes d'un manteau fibrillaire. Les recherches antérieures (en particulier les travaux de ROSENBLUTH et WISSIG : 1964 ; FRIEND et FARQUHAR : 1967) ont montré que ces organites jouent un rôle dans les processus d'absorption et de transfert intra-cellulaire des métabolites protidiques.

2° - AUTRES INCLUSIONS INTRA-CYTOPLASMIQUES :

Les figures myéliniques ainsi que les organites poly-envacuolés doivent probablement (en tout cas pour les figures myéliniques) correspondre aux organites décrits par PITHA (1969) dans la cellule de Paneth chez le Lapin. Comme pour PITHA la nature phospholipidique des formations lamellaires ne nous paraît pas douteuse. Par contre, leur rôle nous semble plus discutable. En se référant à des travaux antérieurs, nous sommes enclins à considérer de tels organites comme des lysosomes secondaires. Certains sont des cytolysosomes du type auto-phagique puisqu'ils sont envacuolés dans une membrane plasmique unique. Dans ce cas l'apparition de tels organites pourrait être la traduction d'une souffrance cellulaire (consécutive au jeûne prolongé ?). Mais il existe également des lysosomes du type hétérophagique dont le contenu paraît correspondre à des débris de parasites intestinaux (figure 9): De telles observations évoquent un rôle phagocytaire dévolu à la cellule de Paneth (cf chapitre VI).

3 - Les cellules atypiques, origine et devenir :

Il nous semble très difficile de classifier ces atypies cellulaires. En effet le nombre des observations est trop restreint étant donné leur rareté.

Le premier type que nous avons décrit (cellule à grains denses mais parfois déformés) doivent représenter des cellules ectopiques. Bien que la structure du grain soit différente de celle décrite par TROUGHTON et TRIER (1969) chez la Souris, nous pensons que ces éléments sont comparables au type qu'ils ont décrit. D'ailleurs la situation de ces cellules chez le Hamster est similaire à celle observée par ces auteurs chez la Souris ; en effet, il s'agit d'éléments disposés à la périphérie de la zone où se rencontrent normalement des cellules de Paneth, soit même sur les murs latéraux de la glande

de Lieberkuhn.

Quant au deuxième type décrit (cellule à gobelet muqueux possédant à son apex des grains sécrétoires identiques aux grains de la cellule de Paneth), nous n'envisageons pour le moment aucune hypothèse. Cet élément représenterait-il la transformation (probablement aberrante et exceptionnelle) d'une cellule de Paneth en cellule caliciforme ? S'agit-il de types cellulaires "intermédiaires" entre la cellule de Paneth et la cellule caliciforme ? Cependant de telles observations viennent confirmer celles que nous avons effectué en microscopie optique. Elles évoquent une parenté embryologique et de différenciation entre la cellule de Paneth et la cellule caliciforme.

IV - CONCLUSION

La morphologie et le mode de sécrétion des grains de la cellule de Paneth chez le Hamster ne nous semblent pas différer des autres espèces animales déjà étudiées en microscopie électronique.

De nombreux points nous paraissent cependant être retenus puisqu'ils précisent, soit le mécanisme de synthèse des grains, soit les mécanismes de différenciation de la cellule de Paneth.

Notre première hypothèse concerne le mécanisme intra-cellulaire du cycle sécrétoire.

L'abondance des micro-villosités au pôle apical, les phénomènes de micro-pinocytose, la présence de vésicules à manteau périphérique, de lysosomes primaires pourraient signer l'existence de phénomènes d'absorption de substance provenant de la lumière intestinale.

D'autre part, la présence de vésicules à triple feuillet et surface externe non revêtue ("smooth vesicles") serait la traduction d'une régénération des micro-villosités de l'apex cellulaire : la cellule de Paneth reconstruirait son pôle apical après destruction partielle lors de la décharge granulaire. Nous pensons donc que la cellule de Paneth présente des phénomènes de sécrétion épisodiques et non systématisés même si les phénomènes sécrétoires sont surtout importants dans les heures qui suivent le repas (cf chapitre IV - A.B. et C).

Notre deuxième hypothèse est axée sur l'origine et le devenir de la cellule de Paneth. L'observation des cellules intermédiaires, tant en microscopie optique qu'en microscopie électronique, peut représenter une preuve de l'origine commune de la cellule de Paneth et de la cellule caliciforme dans une cellule indifférenciée de la partie basse de la glande de Lieberkuhn.

ABREVIATIONS UTILISEES SUR LES CLICHES
EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

C	: Centrosome
CV	: vésicules rugueuses ("Coated vesicles")
D	: dictyosomes
E.p.	: enclave plasmique
G	: grain de zymogène
G.i	: grain de zymogène immature
G.m.	: grain muqueux
I	: cellule indifférenciée
L	: lumière de la glande de Lieberkühn
Ly I	: Lysosome primaire
Ly II	: Lysosome secondaire
M	: mitochondrie
m.v	: microvillosité
M.V.B.	: Multivésicular bodies
m.t	: microtubule
N	: noyau
P	: cellule de Paneth
Pi	: vésicule de pinocytose
re	: reticulum endoplasmique
r.f	: revêtement fibrillaire des villosités
r.e.g	: reticulum endoplasmique granulaire
s.v	: vésicule lisse ("smooth vesicles")
t.f	: tonofilaments
V	: vacuole
V.c	: vacuole de condensation
Z.A	: zonula adhérens

FIGURE 1

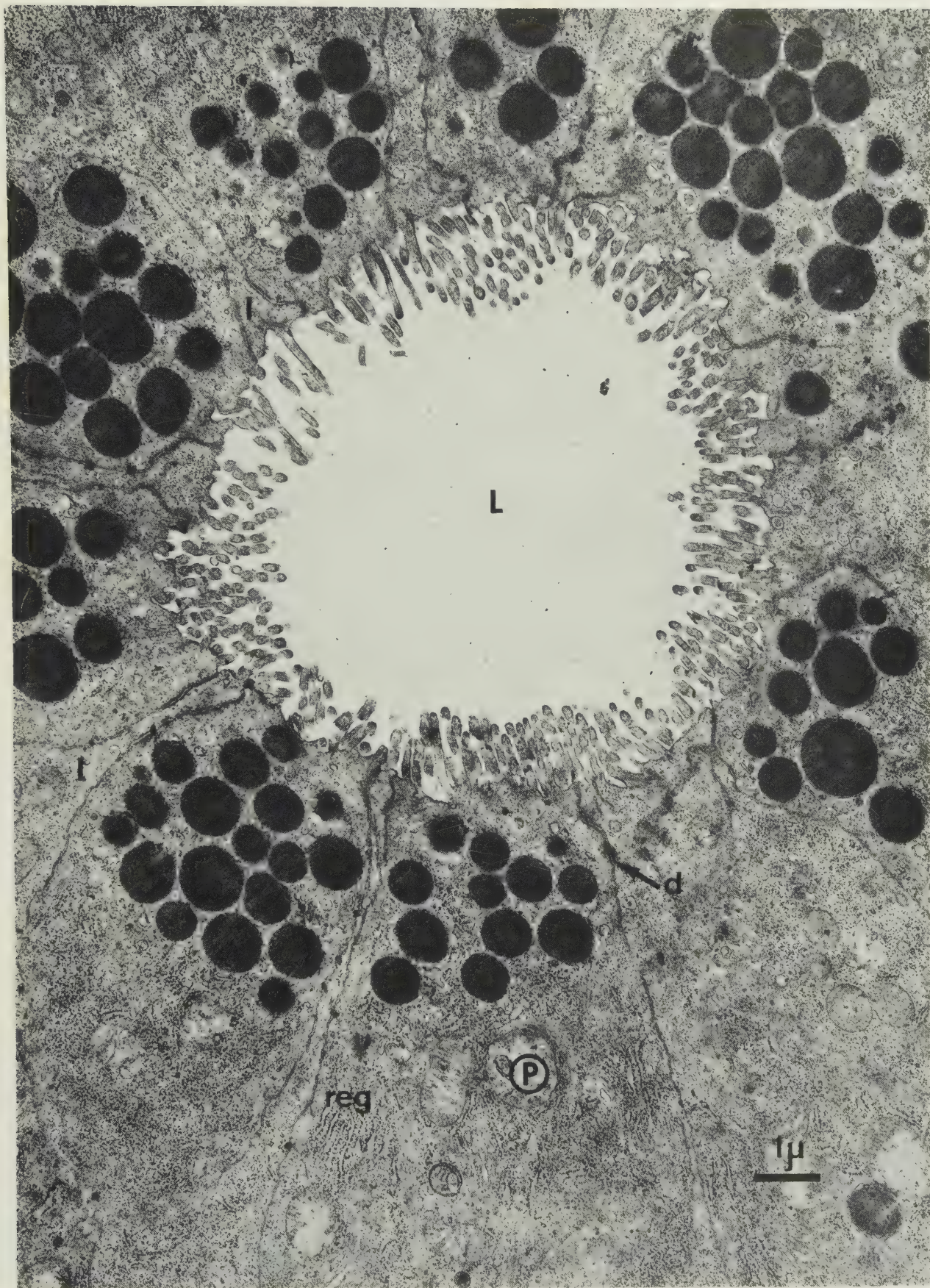


FIGURE 2

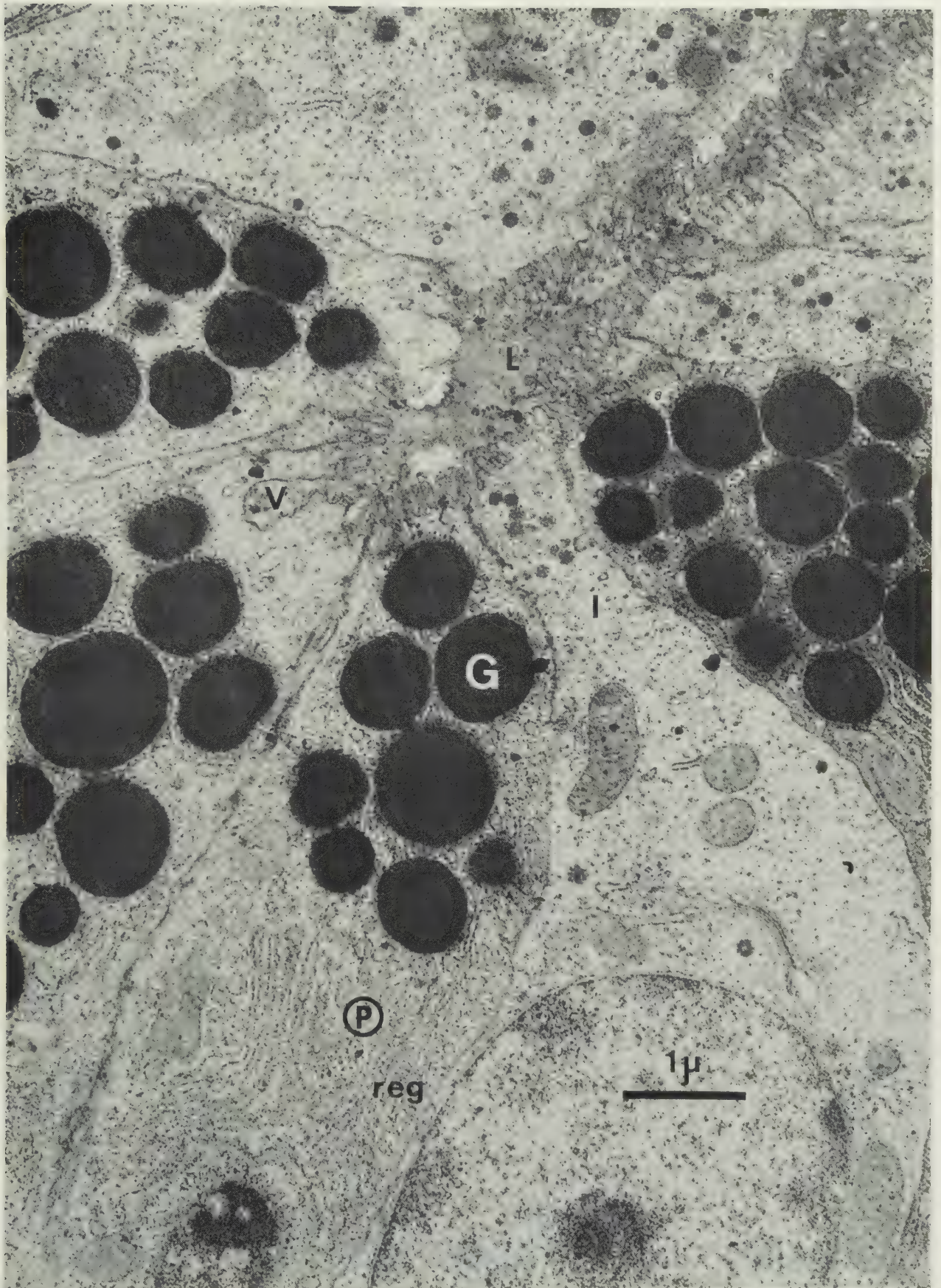
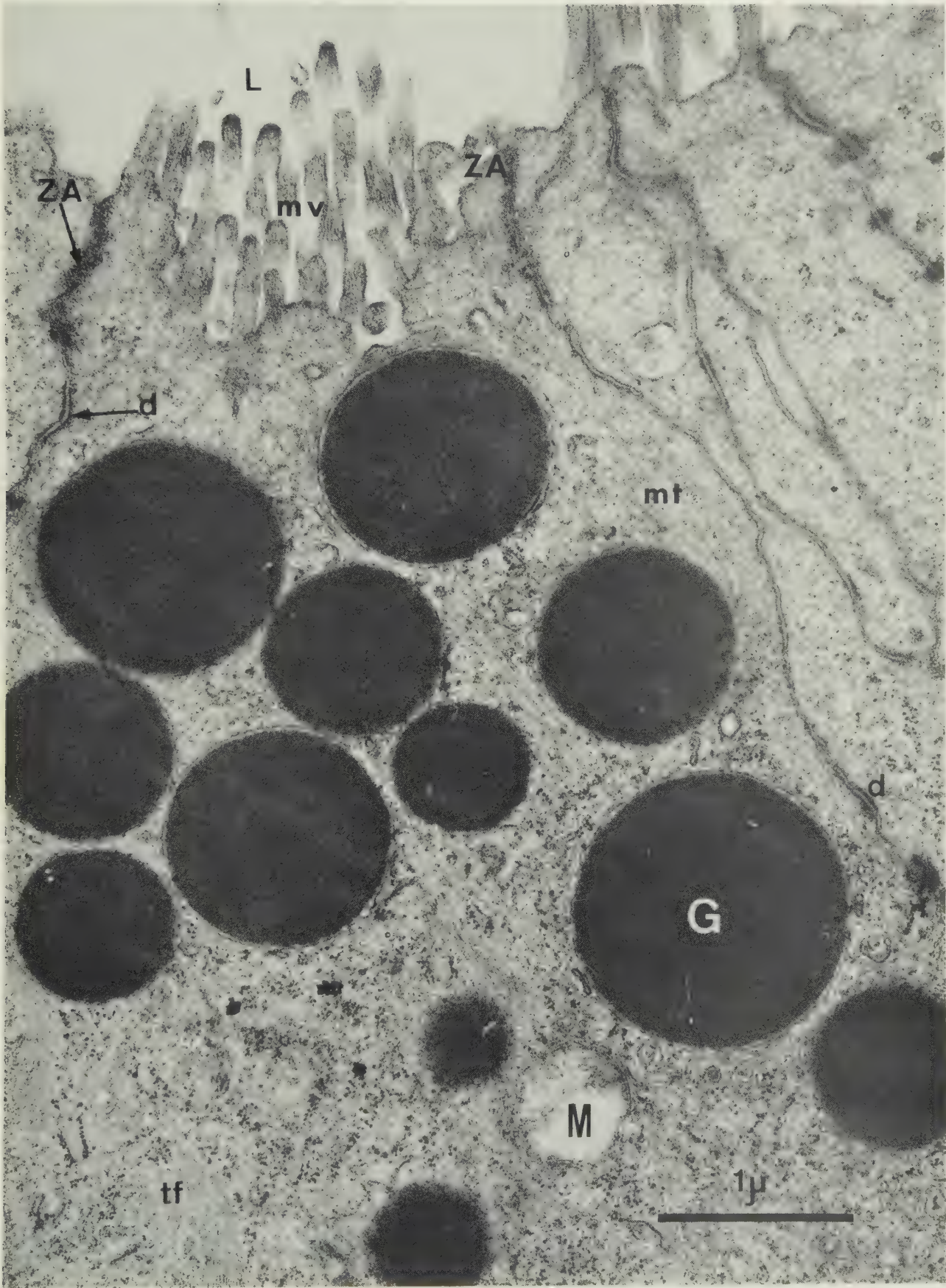


FIGURE 3



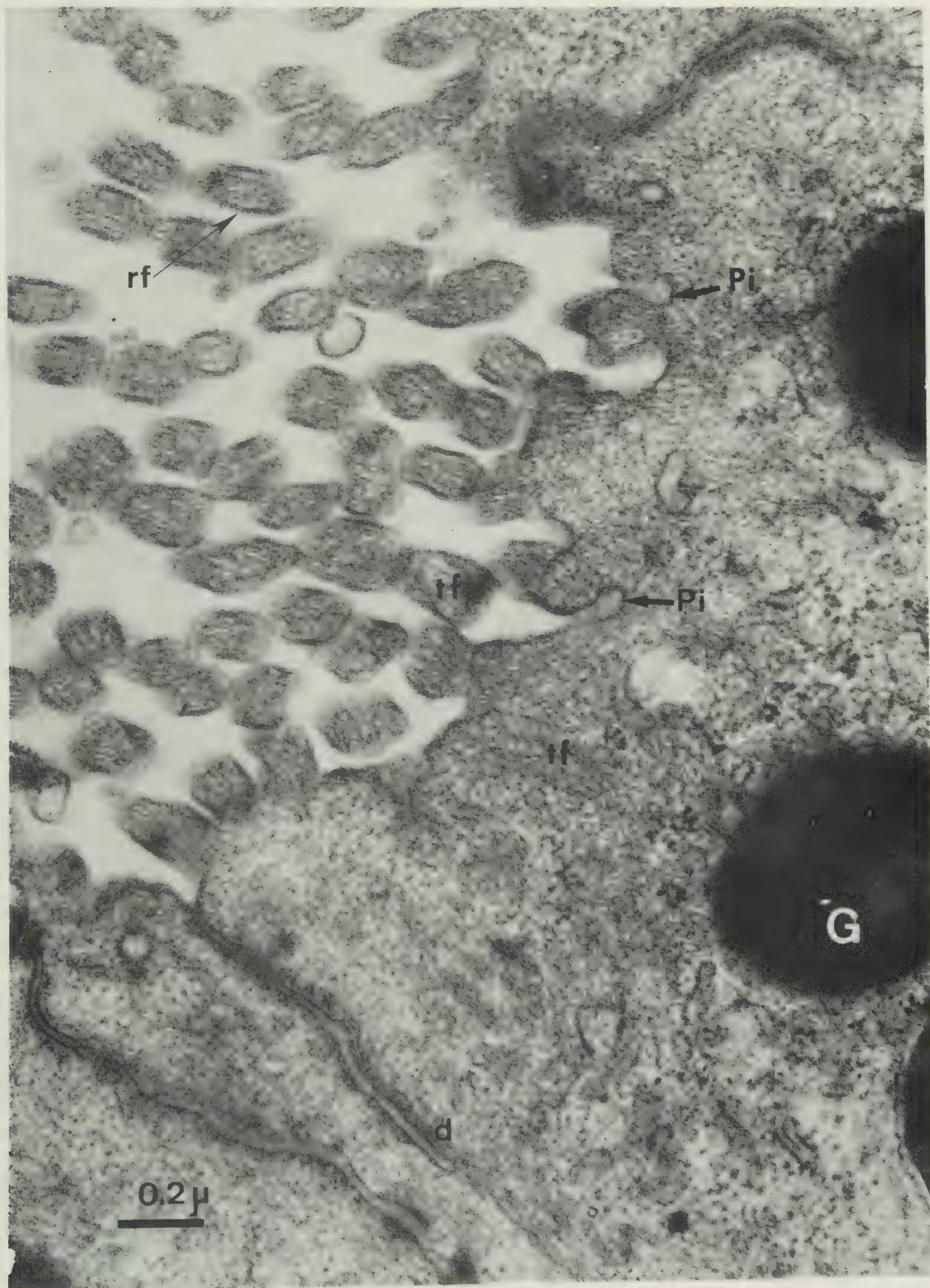


FIGURE 5

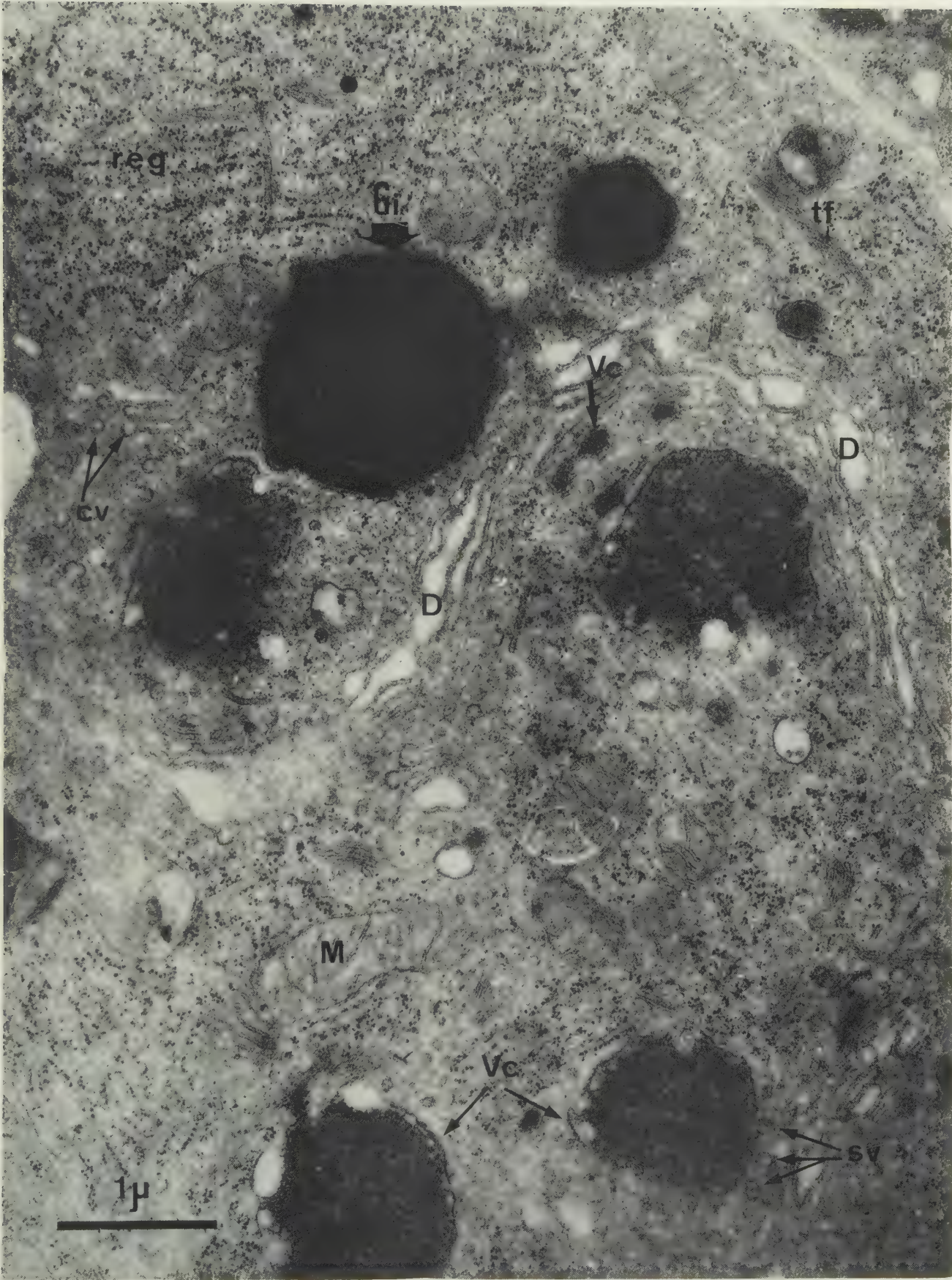


FIGURE 6

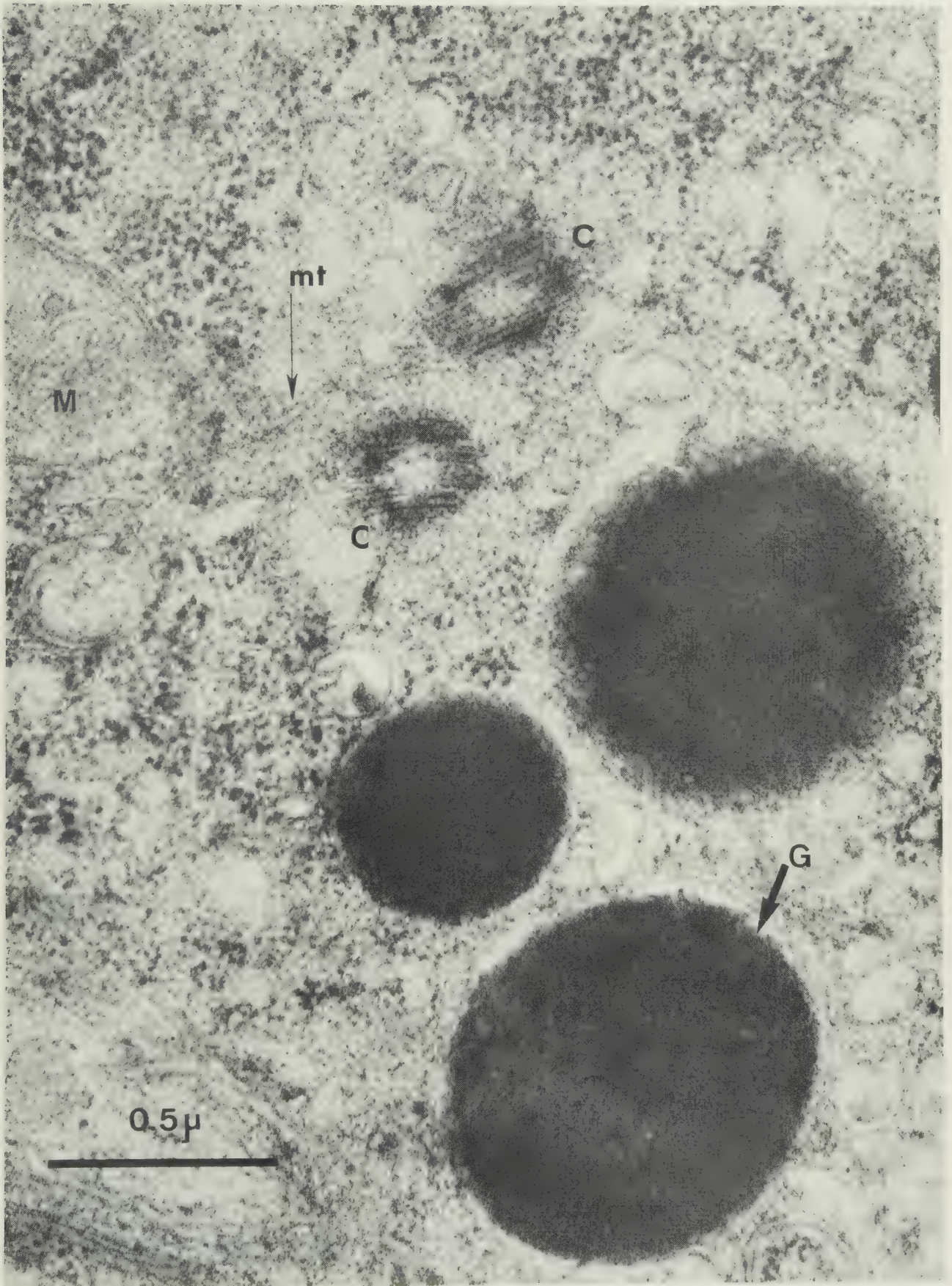




FIGURE 7

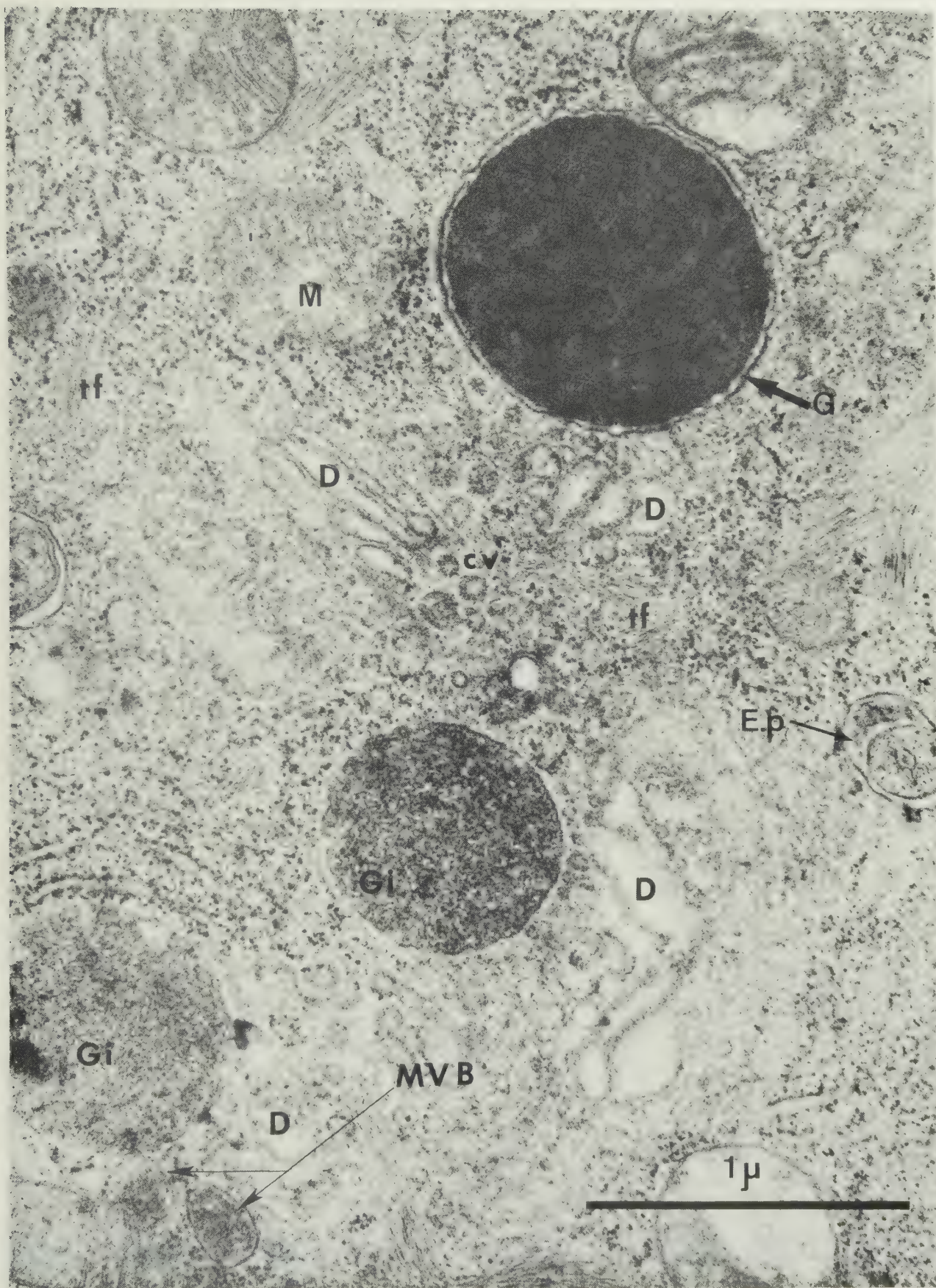




FIGURE 8

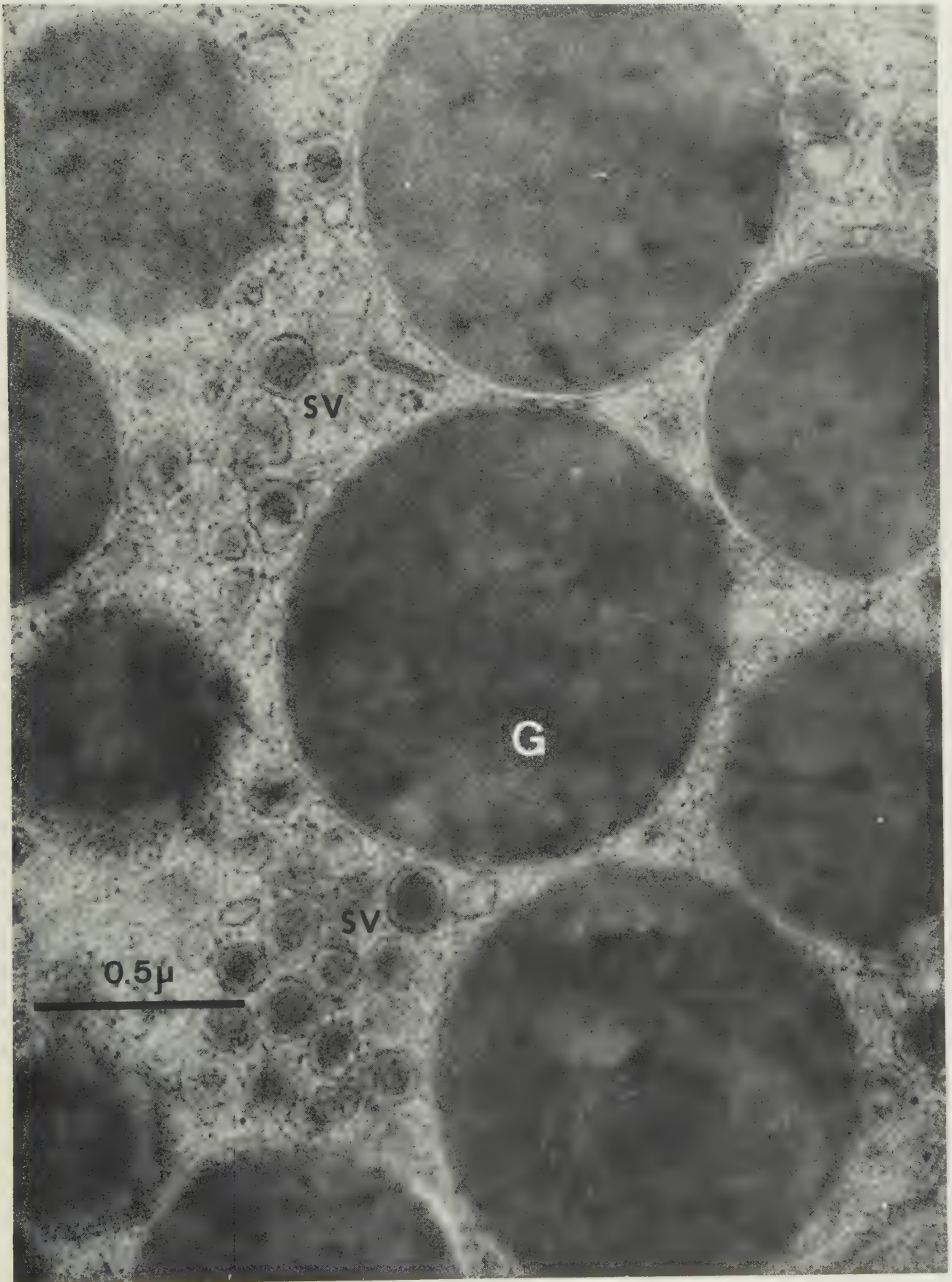




FIGURE 9

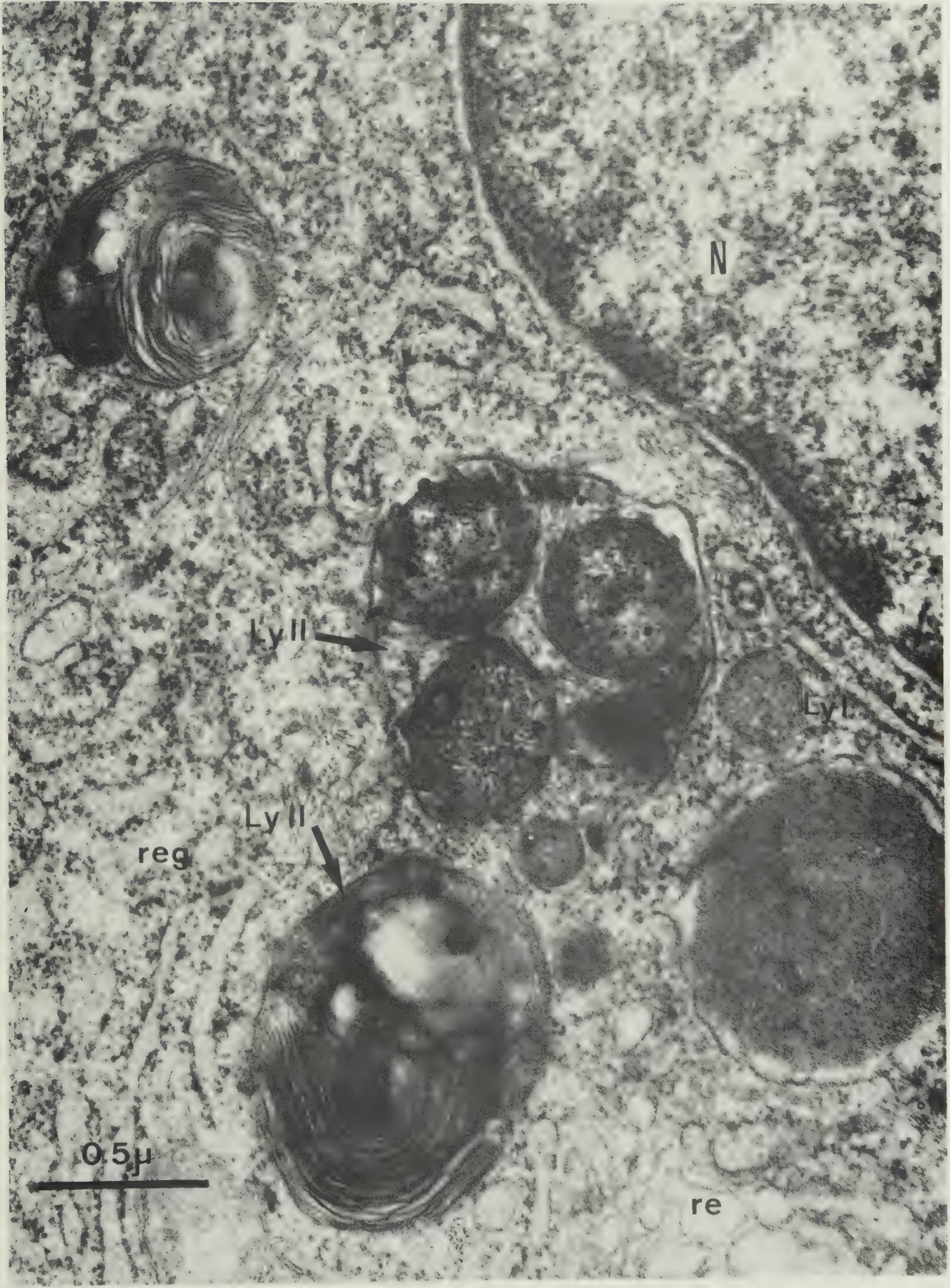




FIGURE 10

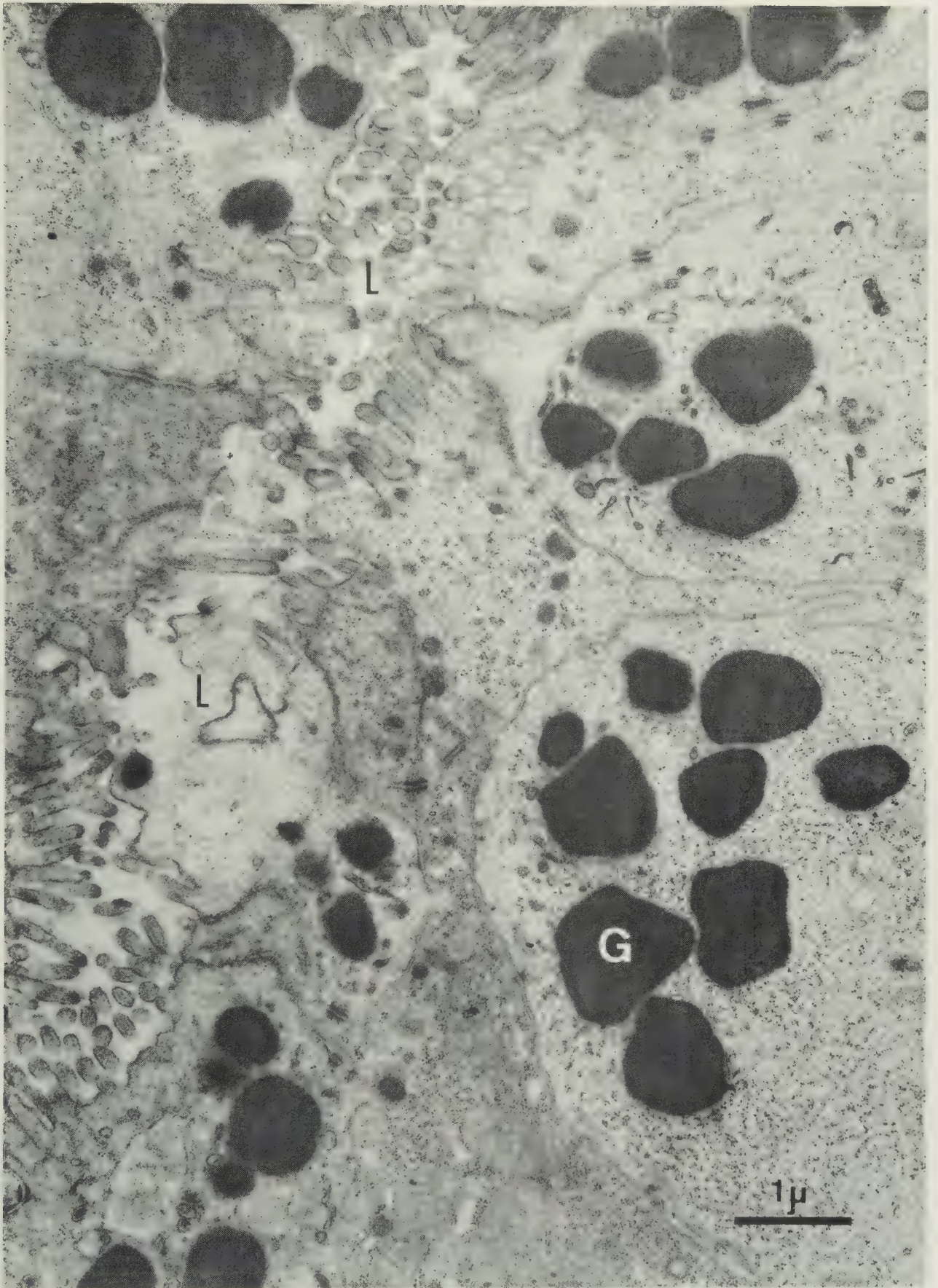
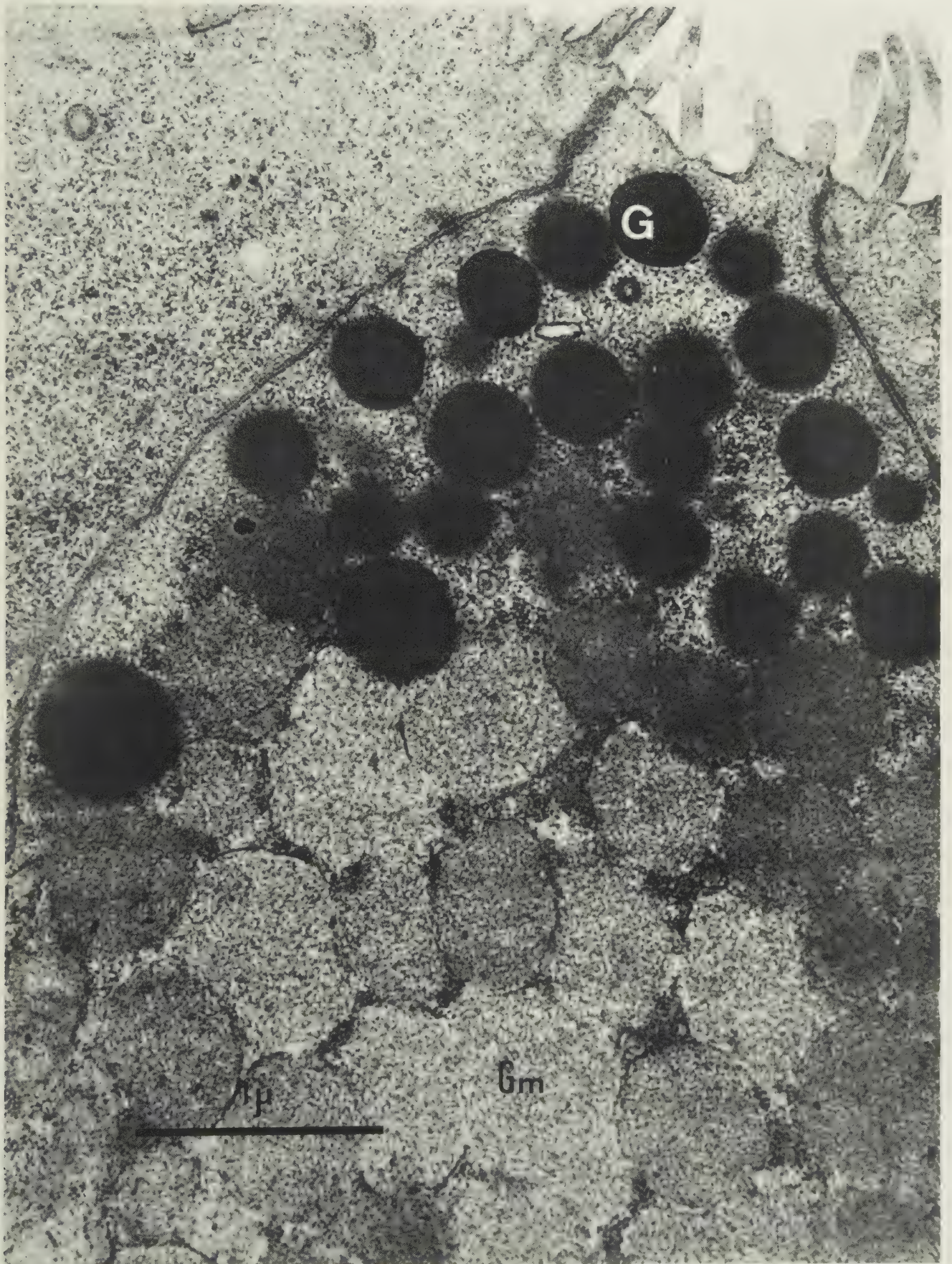




FIGURE 11





CHAPITRE III - C

ETUDE HISTOCHIMIQUE COMPARATIVE
DE LA CELLULE DE PANETH
CHEZ LE HAMSTER, LE RAT ET LA SOURIS



ETUDE HISTOCHIMIQUE COMPARATIVE

DE LA CELLULE DE PANETH

CHEZ LE HAMSTER, LE RAT ET LA SOURIS

L'étude histochemique de la cellule de Paneth est déjà ancienne. Elle porte essentiellement sur l'observation de la nature des grains sécrétoires de cet élément cellulaire (cf. chapitre I-B). Le grain se montre constitué par un contingent avant tout protidique. Cette fraction protidique est constante et pratiquement similaire entre les différentes espèces qui ont fait l'objet d'une étude histochemique détaillée. Mais le grain comporte également un contingent glucidique qui pourrait être lié aux protides du grain sous forme d'une muco- ou d'une glyco-protéine. Le halo périphérique, de nature mucopolysaccharidique est plus ou moins important suivant les espèces.

Nous avons partiellement repris cette étude sur le Hamster puisqu'aucune recherche histochemique concernant la cellule de Paneth n'a été réalisée chez cet animal. Toutes les réactions ont été comparativement pratiquées sur la Souris et le Rat.

I. MATERIEL ET TECHNIQUES

Les animaux étant à jeun depuis 48 heures, nous avons prélevé le 1/3 supérieur du jéjunum chez la Souris, le 1/3 inférieur du jéjunum chez le Hamster, l'iléon chez le Rat (c'est-à-dire une zone où le pourcentage des cellules de Paneth est à son maximum suivant l'espèce considérée). Pour l'histochemie des glucides et des protides, nous avons fixé les pièces, soit trois heures dans le liquide de Maximow, soit six heures dans le formol neutre à 10 % ou le formol salé. Les réactions de caractérisation des lipides ont été prati-

quées sur des coupes débitées à congélation ou au cryostat, après fixation de deux heures dans le formol de Baker.

Toutes les réactions histochimiques utilisées sont décrites dans le traité d'histochimie de GANTER et JOLLES (1970) ou le précis de technique histologique de GABE (1968).

II. RESULTATS

Nous résumons dans les tableaux ci-dessous les résultats obtenus au niveau de la cellule de Paneth :

PROTIDES		SOURIS		HAMSTER		RAT	
Type de réaction	Réaction caractéristique de :	Fixateur :		Fixateur :		Fixateur :	
		Maximow	Formol	Maximow	Formol	Maximow	Formol
Réaction du Biuret	Liaison peptidique	+	+	+	+	+	+
Tétrazo réaction de Danielli	Nombreux acides aminés	+	++	+	++	+	++
Réaction de Barnett et Seligman (1958)	Groupe carboxyliques	+	+	+	+	+	+
Réaction de Geyer (1964)	Groupe carboxyliques	+	+	+	+	+	+
Réaction au Jaune Naphtol S Deitch-1955	Groupe basiques ionisés : -NH_3^+	+	+++	++	+++	+	++
Réaction à la Ninhydrine ou à l'Alloxane-Schiff Yasuma et Ishikawa-1953	-NH_2	+	+++	+	+++	+	+++
Réaction de Sakaguchi-Baker (1947)	Arginine	+	++	++	+++	+	++
D. M. A. B. Glenner (1957)	Tryptophane	+	++	++	+++	+	+
Réaction de Millon procédé de Baker (1956)	Tyrosine	++	++	+	+	++	++
Réaction au D. D. D. Barnett et Seligman 1954	-SH et S-S-	+	++	+	++	+	++

LIPIDES	Fixation par le Formol de Baker-coupes à congélation		
	SOURIS	HAMSTER	RAT
Noir Soudan	-	-	-
Soudan III	- (+ au 1/3 basal de la cellule	-	- (+ au 1/3 basal de la cellule)
Sulfate bleu du Nil (Dunnigan-1968)	-	-	-
Fluorescence par le Benzopyrène Cafeine (Berg - 1951)	-	-	-
	quelques petites inclusions positives dans le 1/3 médian et basal de certaines cellules de Paneth.		
Réaction de Hori (1963) (Phospholipides)	-	-	-
	quelques petites inclusions positives dans le 1/3 médian et basal de certaines cellules de Paneth		

ZINC	Fixation par le formol à 10 %-coupes à congélation		
	SOURIS	HAMSTER	RAT
Réaction à la dithizone	+ (nb)	+ (nb)	+ (nb)

nb : La positivité de la réaction semble plus marquée au niveau de 1/3 médian de la cellule (Zone golgienne) qu'au niveau des grains de zymogène.

GLUCIDES	SOURIS		HAMSTER		RAT	
	Fixateur		Fixateur		Fixateur	
	Maximow	Formol	Maximow	Formol	Maximow	Formol
A.P.S. (Hotchkiss 1948)	+	++	-	-	++	++
A.P.S. Allochrome (Lillie-1950)	+	++	-	-	++	++
A.P.S. (Mowry-1952)	++	++	+	+	++	++
A.P.S. - Bleu Alcian	+	+	-	-	+	+
Bleu Alcian pH 2,6	-	-	-	-	-	-
Métachromasie au Bleu de Toluidine pH 2,5 - 3,9-5	-	-	-	-	-	-

III. DISCUSSION

Les tableaux des résultats nous permettent de constater tout d'abord qu'il n'existe pas de fraction lipidique dans le grain de sécrétion. On note cependant la présence de lipides et en particulier de phospholipides (positivité de la réaction de Hori) au niveau du tiers médian et basal de certaines cellules de Paneth. Ces inclusions lipidiques doivent correspondre aux formations lysosomiales observées en microscopie électronique (cf. chapitre III-B).

Les réactions caractéristiques des protéines montrent que la fraction protidique du grain de zymogène est identique chez le Hamster et les espèces préalablement observées. Notons cependant la particulière richesse en tryptophane et en arginine. La tyrosine est au contraire peu abondante.

Il s'agit d'une protéine basique possédant de très nombreux groupements aminés libres. La structure secondaire de la protéine est probablement complexe étant donné la richesse en radicaux SH et -S-S-.

Il faut remarquer la présence de Zinc associé au contenu du grain de zymogène. On note également la présence de ce cation au niveau de l'étage golgien supra-nucléaire. Nous confirmons ainsi les travaux de BEHNKE et MOE (1964) et MERZEL (1967).

Chez le Hamster la réaction d'Hotchkiss à l'A.P.S. s'est révélée négative au niveau du grain de sécrétion. Pour vérifier cette absence de contingent glucidique nous avons pratiqué plusieurs variantes de la réaction à l'A.P.S.. Seule la réaction à l'A.P.S. selon Mowry montre une faible positivité du contenu granulaire chez le Hamster. Il est possible qu'une extraction partielle du contenu protéique du grain par l'alcool (la coupure périodique s'effectuant, selon cette technique, dans l'éthanol 80°) démasque la fraction glucidique qui ne serait pas atteinte par les autres mélanges réactionnels oxydants.

Le contenu zymogénique des grains sécrétoires des cellules de Paneth est donc probablement constitué par une muco ou une glyco-protéine en accord avec les travaux de SELZMAN et LIEBELT (1961-1962), GEYER (1966), RIECKEN et PEARSE (1966). Par contre la fraction glucidique la plus importante du grain de sécrétion est libre et formée de mucopolysaccharides neutres. Elle

est située au niveau de l'espace clair séparant le contenu granulaire de son enveloppe plasmique. Cette localisation explique l'A.P.S. positivité plus ou moins importante des grains de zymogène suivant les espèces et dépend de l'importance du halo périphérique. L'A.P.S. positivité est ainsi très importante chez le Rat, moins intense chez la Souris, pratiquement nulle chez le Hamster.

Nous pouvons donc affirmer, chez le Hamster, que les grains de zymogène des cellules de Paneth sont strictement séreux et de composition histo-chimique assez voisine de celle observée chez l'Homme (LAUMONIER et METAYER 1967).

CHAPITRE III - D

DIFFERENCIATION DE LA CELLULE DE PANETH

DIFFERENCIATION DE LA CELLULE DE PANETH

Différents travaux ont montré que la cellule de Paneth se différencie tardivement au fond des glandes de Lieberkuhn de l'épithélium de revêtement de la muqueuse intestinale.

Chez la Souris les cellules de Paneth n'apparaissent qu'après la naissance, à la fin de la première semaine (MERZEL 1967, SPERSCHNEIDER et Coll. 1962). Dans les cellules nouvellement formées les granules sont de plus petite taille (SELZMAN et LIEBELT 1962).

Chez le Rat la différenciation des cellules de Paneth ne se produit qu'au 15ème jour après la naissance (TONER 1968).

Chez l'Homme la différenciation serait beaucoup plus précoce, au 145ème jour de la vie intra-utérine (WHEELER 1964).

Nous avons voulu déterminer la date d'apparition des cellules de Paneth chez le Hamster. Nous avons également observé des foetus humains âgés de 4 mois, 4 mois et demi, 5 mois et demi.

A. HAMSTER

Les intestins de Hamsters ont été prélevés in toto entre le premier et le quinzième jour après la naissance ; fixés 3 heures dans le liquide de Maximow, inclus dans la celloidine-paraffine.

Au 12ème jour nous avons prélevé des fragments de la zone haute et basse du jéjunum ainsi que l'iléon pour l'observation ultrastructurale.

La microscopie optique nous a permis de constater que les cellules de Paneth apparaissent entre le 10ème et le 13ème jour après la naissance. Au 10ème jour quelques cellules du fond des glandes, dans la première portion du jéjunum et le duodénum, acquièrent un aspect pyramidal et peuvent évoquer des cellules de Paneth en voie de différenciation bien que les grains soient encore absents. A partir du 11ème jour, les cellules de Paneth granulaires sont nettement reconnaissables ; les grains de zymogène sont cependant peu nombreux, de petite taille et strictement accumulés dans l'apex cellulaire.

Du 11ème au 15ème jour la différenciation s'effectue dans le sens oral-aboral, du duodénum vers l'iléon. L'étude ultrastructurale au 12ème jour confirme les observations en microscopie optique. Au niveau de l'iléon les cellules de Paneth sont encore peu différenciées et rares. Les grains apexiens sont de petite taille et de faible densité aux électrons (fig. Ia). Le cytoplasme de la cellule est encore pauvre en organites cellulaires. Seul le réticulum granulaire est bien développé ; il occupe la totalité de la cellule mais est d'aspect vacuolaire. Il existe un grand nombre de ribosomes libres.

Au contraire, dans la zone haute du jéjunum, les cellules de Paneth sont déjà différenciées et facilement reconnaissables (fig. Ib). Tous les organites observés dans la cellule de Paneth du Hamster adulte sont présents. L'appareil de Golgi supra-nucléaire semble fonctionnel ; l'ergastoplasme basal est dense et orienté. Les micro-tubules, à disposition axiale dans le cytoplasme supra-nucléaire, apparaissent. Les grains de zymogène sont encore peu nombreux et localisés dans la partie terminale de l'apex cellulaire.

Bien que possédant la plupart des caractéristiques cytologiques des cellules de Paneth mures, les cellules jeunes sont généralement beaucoup plus hautes et plus étroites (fig. Ib).

Chez le Hamster comme chez les autres espèces de rongeur antérieurement observées, les cellules de Paneth se différencient tardivement après la naissance. L'apparition des cellules de Paneth chez le Hamster semble correspondre, chez cet animal, à un début de sevrage et à des prises alimentaires

autres que l'allaitement par la mère. Nous pensons, ultérieurement vérifier une telle hypothèse.

D'autre part, il n'est pas rare de rencontrer chez le Hamster adulte, des cellules de Paneth ayant des caractéristiques identiques à celles observées au niveau de l'iléon au 11ème jour après la naissance : grains de petite taille, peu denses aux électrons ; pôle apical étroit ; nombreux corps multivésiculaires (fig. 2). De tels éléments doivent correspondre à des cellules de Paneth en voie de différenciation.

B. HOMME

Nous avons pu observer l'intestin grêle de 3 foetus humains approximativement âgés de 4 mois, 4 mois et demi, et 5 mois et demi (longueur Crown-Rump : 85, 125 et 180 mm).

Quel que soit l'étage considéré, nous n'avons jamais visualisé des cellules de Paneth au fond des glandes intestinales même chez un foetus âgé de 5 mois et demi. Nous sommes ainsi en désaccord avec les travaux de WHEELER (1964). Pour cet auteur les cellules de Paneth apparaîtraient à la fin du 4ème mois de la vie intra-utérine.

En fait, excepté l'étude de Wheeler, aucun travail récent n'a porté sur la différenciation des cellules de Paneth chez l'Homme. Des recherches plus anciennes (BLOCH 1903, SCHMIDT 1905, KULL 1911, EKLOF 1914), rapportées dans l'article de PARAT (1923) paraissent contradictoires.

Il semble donc nécessaire de reprendre cette étude avec un nombre plus important d'observations.

Figure 1 :

Aspect ultrastructural des cellules de Paneth chez le Hamster,
12 jours après la naissance,

- a. Au niveau de l'iléon
- b. Au niveau de la zone haute du jéjunum.

Figure 2 :

Aspect ultrastructural d'une cellule de Paneth en voie de
différenciation chez le Hamster adulte.

G : grain de zymogène
go : appareil de Golgi
L : Lumière glandulaire
mt : microtubules
M.V.B. : "Multi-vésicular bodies"
reg : reticulum endoplasmique granulaire.

FIGURE 1

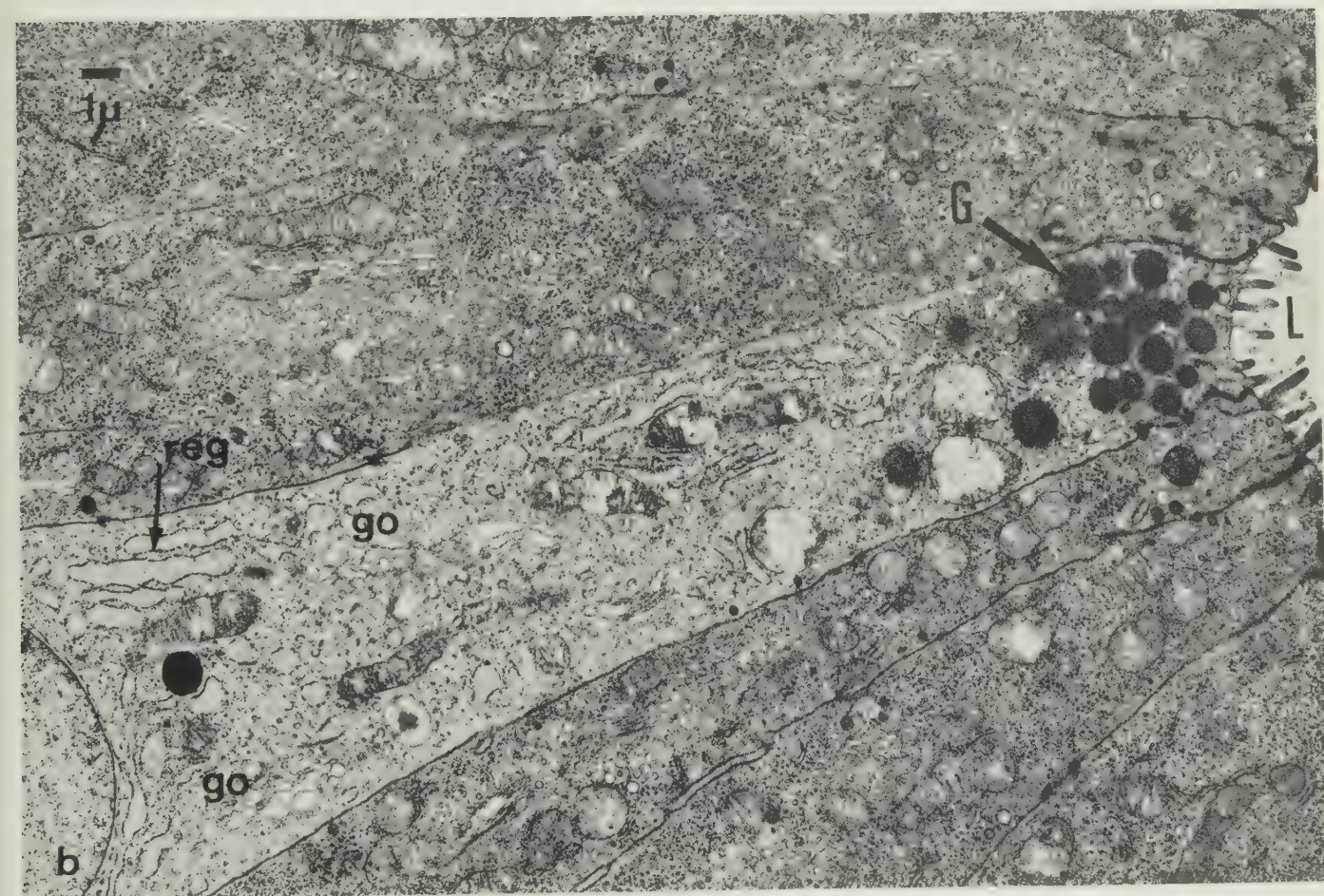
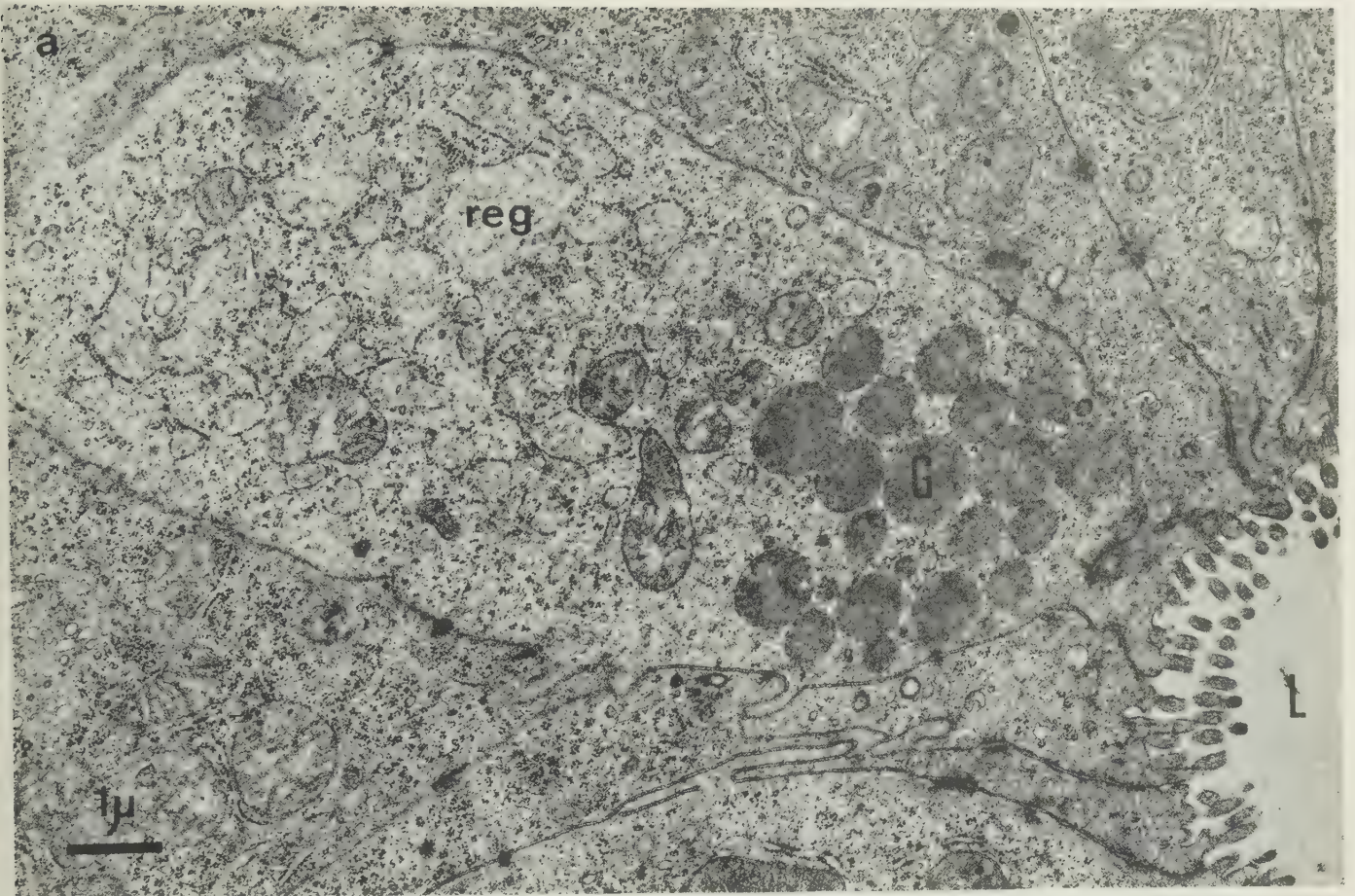




FIGURE 2





CHAPITRE IV

ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA CELLULE DE PANETH AU COURS DES EPISODES DIGESTIFS

- Régulation de la Sécrétion -



CHAPITRE IV - A

VARIATIONS MORPHOLOGIQUES DES CELLULES DE PANETH AU COURS DE LA REALIMENTATION



VARIATIONS MORPHOLOGIQUES DES CELLULES DE PANETH AU COURS DE LA REALIMENTATION

Au cours des processus de la digestion chez la Souris, PANETH (1888) avait déjà mis en évidence des modifications morphologiques de cet élément cellulaire. Il remarqua qu'après un jeûne prolongé, la cellule s'hypertrophiait, son pôle apical possédant alors une charge maximale en grains sécrétoires. Le repas provoque au contraire l'excrétion cellulaire. Plus récemment, WINDISH (1966), LAUMONIER et METAYER (1967) ont montré, chez le Rat, que cette décharge granulaire est précoce lors de la réalimentation de l'animal à jeun ; si trente minutes après le repas les grains sont devenus rares ou absents, ils réapparaissent dès la première heure. Nous mêmes (BALAS, 1970) avons chez la Souris confirmé les travaux de LAUMONIER et METAYER. Au contraire, TRIER et Coll (1967) minimisent le rôle joué par l'alimentation sur le processus excrétoire.

Il nous a donc paru intéressant de préciser la réponse des cellules de Paneth au cours de la réalimentation de l'animal à jeun. Notre expérimentation porte sur deux espèces de Rongeurs : la Souris et le Hamster.

Protocole expérimental :

Tous les animaux ont été soumis à la diète hydrique pendant 48 heures (en cages métaboliques pour éviter les risques de coprophagie). Des groupes de dix animaux furent ensuite réalimentés durant dix minutes sous surveillance avec un aliment de laboratoire (aliment composé pour Hamster ou Souris - UAR - 7, rue du Maréchal Galliéni - 91 - Villemoisson sur Orge). Les divers groupes de Souris ont été sacrifiés soit immédiatement, soit 15,

3 0, 45, 60, 75, 90, 105 et 120 minutes après l'arrêt de la réalimentation. Dans le cas du Hamster les durées ont été de 10, 20, 30, 40, 50, 60 et 70 minutes. Des groupes témoins appartenant aux deux espèces n'ont pas été réalimentés mais sacrifiés après 48 heures de jeûne.

Nous avons systématiquement prélevé l'intestin grêle au niveau de la zone haute, moyenne et basse du jéjunum. Tous les prélèvements ont été fixés pendant six heures dans le liquide de Maximow puis inclus dans la paraffine. Les coupes ont ensuite été colorées pour la plupart par le trichrome de GABE et MARTOJA (1957).

Chez le Hamster, la partie basse du jéjunum a également été observée en microscopie électronique.

Résultats expérimentaux :

Chez la Souris, au niveau de la partie haute et basse du jéjunum, nous avons effectué des numérations sur coupes transversales non sériées pour évaluer le taux de charge granulaire des cellules de Paneth.

Chez le Hamster, les numérations ont été effectuées au niveau de la partie basse et moyenne du jéjunum. En effet, la variabilité naturelle de la répartition des cellules de Paneth dans la zone haute du jéjunum ne permet pas d'obtenir des résultats significatifs à cet étage.

TABLEAU DES RESULTATS :

Taux de charge en grains sécrétoires des cellules de Paneth en fonction du temps écoulé après réalimentation de l'animal à jeun :

A - SOURIS

	Jéjunum haut	Jéjunum bas
Témoin	0,840 $\pm$ 0,044	0,760 $\pm$ 0,030
0 Minute	0,815 $\pm$ 0,034	0,700 $\pm$ 0,036
15 minutes	0,580 $\pm$ 0,032	0,700 $\pm$ 0,032
30 minutes	0,440 $\pm$ 0,031	0,550 $\pm$ 0,035
45 minutes	0,370 $\pm$ 0,046	0,480 $\pm$ 0,028
60 minutes	0,560 $\pm$ 0,040	0,690 $\pm$ 0,038
75 minutes	0,690 $\pm$ 0,043	0,680 $\pm$ 0,040
90 minutes	0,640 $\pm$ 0,054	0,680 $\pm$ 0,069
105 minutes	0,670 $\pm$ 0,037	0,660 $\pm$ 0,037
120 minutes	0,650 $\pm$ 0,040	0,680 $\pm$ 0,043

B - HAMSTER

	Jéjunum bas	Jéjunum moyen
Témoin	0,594 $\pm$ 0,029	0,608 $\pm$ 0,053
0 minute	0,576 $\pm$ 0,033	0,576 $\pm$ 0,052
10 minutes	0,480 $\pm$ 0,031	0,540 $\pm$ 0,057
20 minutes	0,398 $\pm$ 0,047	0,458 $\pm$ 0,017
30 minutes	0,322 $\pm$ 0,024	0,298 $\pm$ 0,016
45 minutes	0,198 $\pm$ 0,055	0,202 $\pm$ 0,040
60 minutes	0,480 $\pm$ 0,026	0,380 $\pm$ 0,042
70 minutes	0,466 $\pm$ 0,034	0,404 $\pm$ 0,029

Nous avons reporté ces résultats sur des graphiques (figure n° 1) qui expriment les variations du taux de charge granulaire des cellules de Paneth en fonction du temps écoulé après réalimentation contrôlée. Sur la figure n° 2 sont disposées les microphotographies représentant l'aspect de la charge granulaire des cellules de Paneth au niveau du jéjunum moyen chez l'animal à

jeun et 45 minutes après l'interruption de la réalimentation.

LAUMONIER et METAYER (1967) avaient déjà montré chez le Rat, une dégranulation précocedes cellules de Paneth après réalimentation de l'animal à jeun. Chez la Souris et le Hamster, nos observations indiquent que cette dégranulation est importante dès la quinzième minute. L'aspect de la courbe permet d'ailleurs d'admettre que l'excrétion des grains débute même avant l'interruption de la réalimentation.

Chez la Souris comme chez le Hamster, le maximum de dégranulation se situe entre les 40 ème et 50 ème minutes qui suivent le début du repas. Le processus excrétoire affecte 25 à 45 % du stock granulaire chez la Souris ; cette chute est encore plus significative chez le Hamster : 70 % du stock granulaire est émis à l'intérieur de la lumière des glandes de Lieberkühn.

On assiste ensuite à une recharge cellulaire en grains de sécrétion. Cette phase de recharge semble se diviser en deux étapes : une première, rapide (d'une durée de 20 à 30 minutes) où le stock granulaire est reconstitué dans sa presque totalité (pour les 2/3 du pourcentage de dégranulation) ; une deuxième où la fin de la recharge s'effectue alors très lentement.

Discussion :

Nous n'avons jamais observé de préparations sur lesquelles l'ensemble des cellules de Paneth auraient été totalement dégranulées : même à la 30 ème ou 45 ème minute, si dans la plupart des cryptes les cellules de Paneth ont des pôles apicaux vides, il existe néanmoins quelques cryptes possédant des cellules de Paneth granuleuses.

Toutefois, il nous a paru intéressant de remarquer que les cellules de Paneth constituant le fond d'une même glande de Lieberkühn sont toujours, à un instant donné, dans la même phase sécrétoire. Chaque fond de glande représenterait donc une unité fonctionnelle sécrétoire. Cette constatation n'est pas sans rappeler l'opinion émise par BROUSSY et BARRY (1944) qui considèrent l'ensemble des cellules de Paneth comme "une glande séreuse intestinale diffuse analogue au pancréas exocrine".

Au cours de la phase de dégranulation, nous avons observé des images d'excrétion des cellules de Paneth à l'intérieur de la lumière des glandes de Lieberkühn. On constate une fluidification immédiate du produit de sécrétion qui occupe la totalité de la lumière glandulaire. Cette sécrétion n'est pas homogène. A un fort grossissement, et après fixation, elle paraît constituée, dans les deux espèces, par des trainées filamenteuses, parallèles les unes aux autres, disposées longitudinalement dans la lumière de la glande de Lieberkühn. Nous avons cependant été surpris par la rareté de telles images de sécrétion. L'excrétion cellulaire est donc un phénomène très rapide.

En microscopie électronique, chez le Hamster à jeun (cf chapitre III B, étude ultrastructurale de la Cellule de Paneth, figure 3), le pôle apical des cellules de Paneth possède de nombreuses micro-villosités longues et rectilignes surmontant un plateau de densification hyaloplasmique dans lequel aucune inclusion intra-cytoplasmique ne semble pénétrer. Au contraire (figure n° 3), entre les 30 ème et 45 ème minutes qui suivent l'interruption de la réalimentation, le pôle apical de la cellule de Paneth est considérablement remanié. En effet nous avons noté la disparition totale des micro-villosités et du plateau hyaloplasmique sous-jacent. La zone apexienne est alors occupée par de nombreuses vacuoles, volumineuses, de forme irrégulière, limitées par une membrane plasmique mince, communiquant avec la lumière glandulaire par un canal plasmique plus ou moins sinueux. Le contenu vacuolaire est peu dense, finement granuleux et d'aspect identique au produit de sécrétion déversé dans la lumière du fond de la glande de Lieberkühn (figure n° 3). Nous pensons donc que ces vacuoles correspondent au reliquat de la membrane du grain sécrétoire après rejet du matériel enzymatique dans la lumière de la glande de Lieberkühn. Le mode de sécrétion de la cellule de Paneth chez le Hamster, en accord avec les observations effectuées sur d'autres espèces (STANLEY et TRIER, 1965), serait donc de type mérocrine.

Au cours de la phase d'excrétion granulaire (30 ème et 45 ème minutes), la charge cellulaire apicale en grains de sécrétion a pratiquement disparu. Par contre la néo-synthèse granulaire au niveau de la zone golgienne est intense : les dyctyosomes golgiens sont très nombreux et contiennent un matériel finement granuleux : ceux de la zone centrale se dilatent, prennent une forme progressivement circulaire tandis que leur contenu se densifie au cours de leur progression vers l'apex cellulaire (figure n° 3). Mais les

grains de sécrétion nouvellement synthétisés ne possèdent pas la densité du matériel intra-granulaire observé chez les animaux soumis au jeûne prolongé. La cellule de Paneth paraît donc être un élément à cycle sécrétoire court : les mécanismes excrétoires épuisent momentanément le stock granulaire au début du repas, mais rapidement les processus de synthèse viennent reconstituer le taux de charge granulaire des cellules de Paneth au cours même des phénomènes de décharge.

En outre la sécrétion des cellules de Paneth est probablement continue. En effet, en accord avec les observations antérieures de TRIER (1967), nous avons pu remarquer des images d'excrétion mérocrine des cellules de Paneth chez le Hamster à jeun, donc en dehors de tout épisode digestif. Cependant, lors du jeûne, les grains sont émis lentement, isolément et sans destruction notable des microvillosités apicales.

Ainsi, même si la sécrétion des cellules de Paneth est continue, le repas paraît représenter un facteur accélérant les mécanismes d'excrétion dans la lumière de la glande de Lieberkühn.

D'autre part l'observation en microscopie optique chez les deux espèces étudiées et plus particulièrement la comparaison des graphiques (figure n° 1) permettent de faire deux constatations :

1°) - La réponse de décharge des cellules de Paneth est plus importante dans la partie haute du jéjunum que dans sa partie basse.

2°) - Les tracés correspondant soit à la partie haute, soit à la partie basse du jéjunum chez la Souris, à la partie haute et moyenne chez le Hamster, présentent un parallélisme remarquable, tant dans la phase de décharge que dans la phase de reconstitution du stock granulaire. En particulier, il faut noter la concomitance du début de la phase d'excrétion et du maximum de décharge granulaire quelque soit l'étage jéjunal considéré. La possibilité d'un mécanisme direct de sécrétion, sous l'action locale et par contact des aliments avec l'épithélium de la muqueuse de l'intestin grêle au moment du passage des métabolites, paraît donc exclue. D'ailleurs à la 60 ème minute les métabolites alimentaires sont encore situés dans la partie haute du jéjunum. Devant cet aspect particulier de la réponse sécrétoire des cellules de Paneth, il est donc logique de supposer qu'il existe un processus réflexe contrôlant les mécanis-

mes de dégranulation de cet élément cellulaire. Il nous est cependant, impossible de préciser le type du reflexe ; nerveux ou humoral local ou même neuro-endocrinien plus complexe.

CONCLUSION

Sur cet ensemble de constatations morphologiques et histophysiologiques nous avons été amené à émettre des hypothèses sur les facteurs et les modes de sécrétion de la cellule de Paneth.

1°) - La réalimentation de l'animal à jeun, provoque une dégranulation des cellules de Paneth qui est très précoce et affecte jusqu'à 70 % du stock granulaire. Le maximum de la phase d'excrétion se situe entre la 40 ème et la 50 ème minute qui suit le début du repas. La reconstitution du stock granulaire est ensuite très rapide et débute 45 à 60 minutes après l'interruption de la réalimentation.

2°) - La cellule de Paneth paraît être un élément à cycle sécrétoire court sinon continu : celle-ci est momentanément épuisée au début du repas, mais rapidement des mécanismes de synthèse interviennent pour compenser les phénomènes de décharge.

3°) - L'excrétion serait de type mérocrine : il s'agirait donc d'un mode sécrétoire commun à la plupart des cellules séreuses.

4°) - Les cellules de Paneth constituant le fond d'une glande de Lieberkühn, sont toujours à un instant donné dans la même phase métabolique. Chaque fond de glande pourrait donc avoir la valeur d'une unité fonctionnelle sécrétoire.

5°) - Enfin la rapidité de la réponse des cellules de Paneth après réalimentation de l'animal à jeun, ainsi que la concomitance de réponse entre deux étages éloignés de l'intestin grêle nous permet d'envisager la possibilité d'existence d'un mécanisme réflexe, contrôlant les processus sécrétoires de la cellule de Paneth au cours de la digestion.

- FIGURE 1 :

Variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth après réalimentation de la Souris (1) ou du Hamster (2).

A) zone basse du jéjunum

B) zone haute du jéjunum

- FIGURE 2 :

Aspect microscopique de la charge zymogénique des cellules de Paneth au niveau de la zone moyenne du jéjunum

1) chez la Souris après 48 heures de jeûne

2) chez le Hamster après 48 heures de jeûne

3) chez la Souris, 45 minutes après réalimentation

4) chez le Hamster, 45 minutes après réalimentation

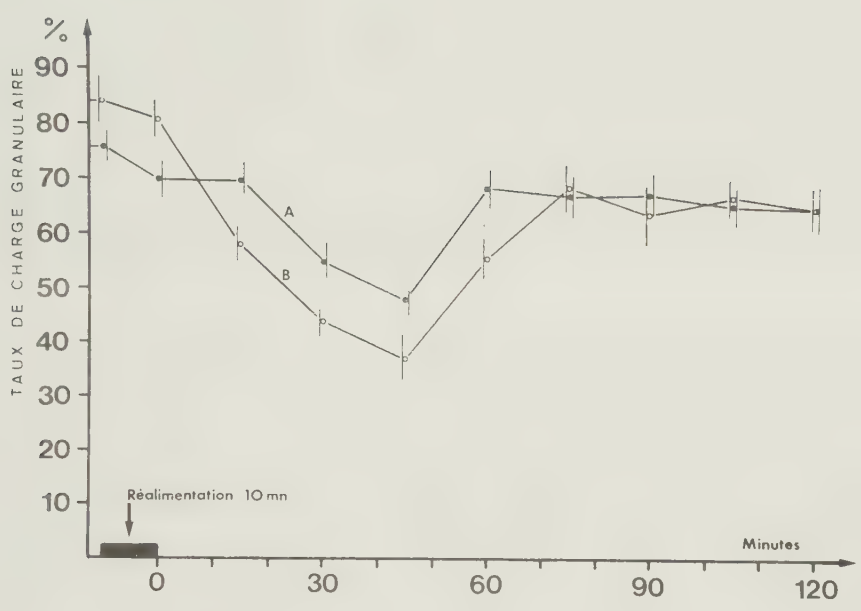
Coloration : trichrome de Gabe et Martoja. x 125.

- FIGURE 3 :

Aspect ultrastructural d'une cellule de Paneth chez le Hamster, 45 minutes après réalimentation. A noter l'élargissement de la lumière glandulaire (L) et la disparition des microvillosités. Des vacuoles (V), en communication avec la lumière, représentent probablement le reliquat du grain de zymogène après émission de son contenu. Le dispositif tonofilamentaire et microtubulaire (t) est disposé sous forme de faisceaux compacts. L'appareil de Golgi est hypertrophié et secrète de nombreux grains encore immatures. D'abord irréguliers (G_1), les grains s'arrondissent progressivement (G_2) et se densifient en quittant la zone golgienne. Les grains apexiens (G_3) néo-synthétisés n'ont toutefois pas la densité électronique observée chez des animaux à jeun.

FIGURE 1

1



2

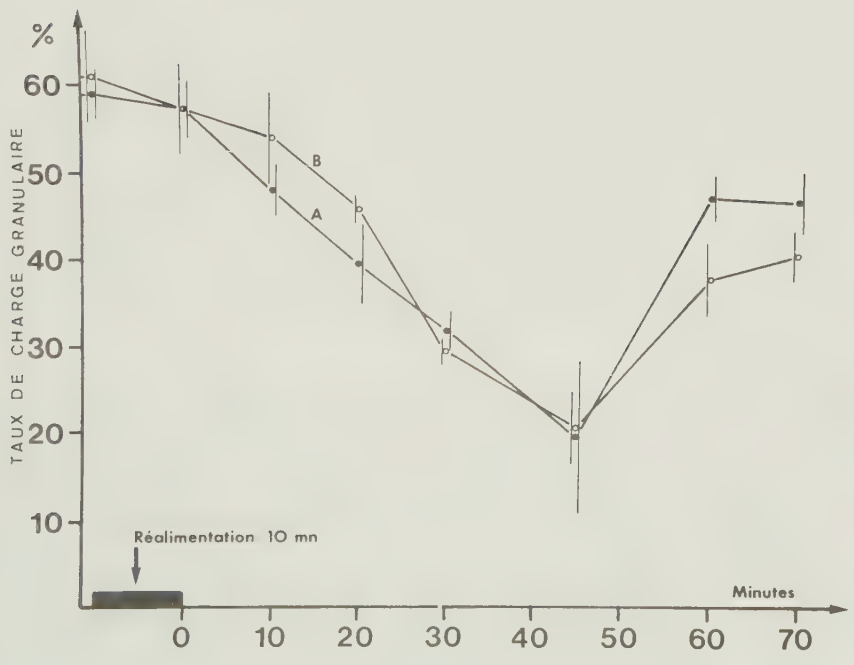


FIGURE 2

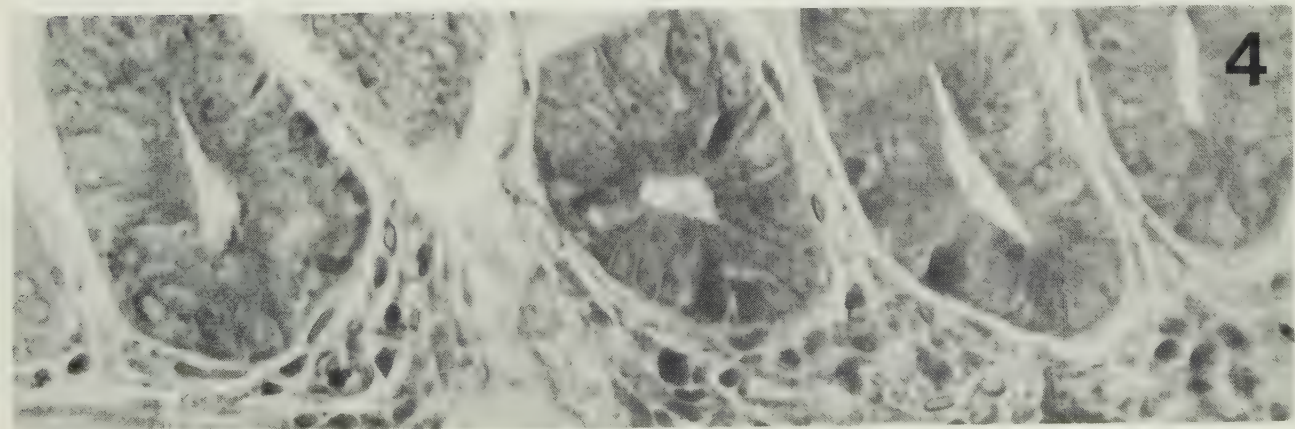
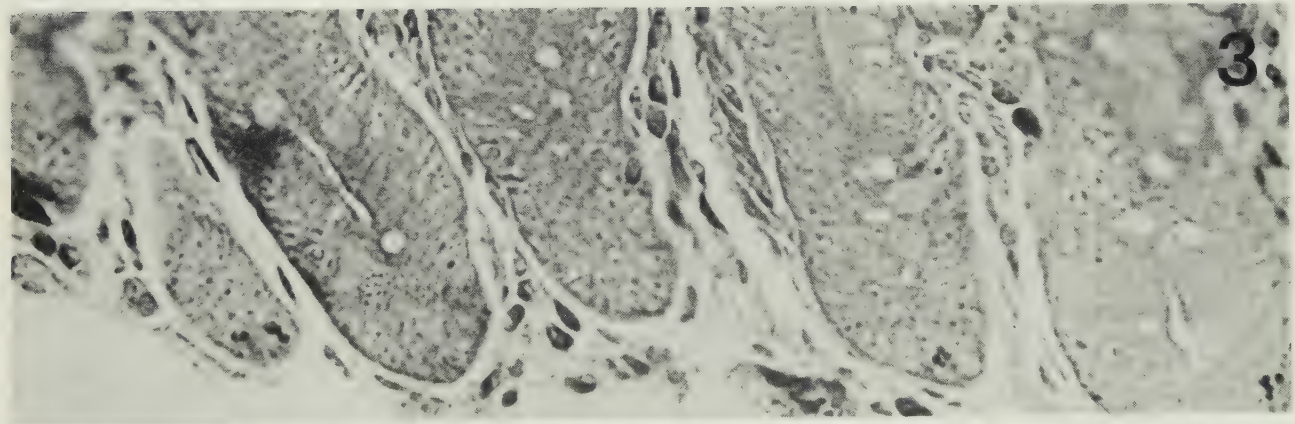
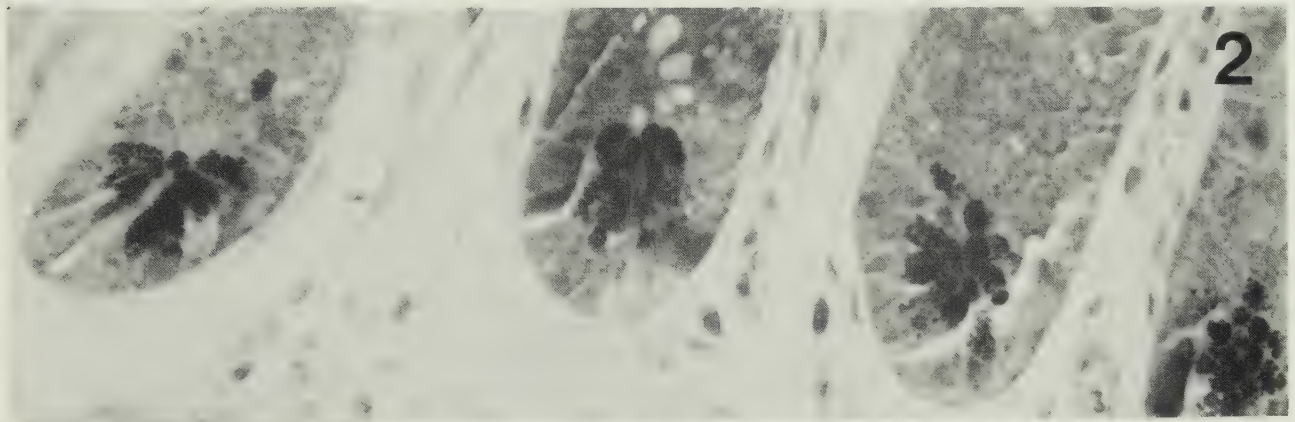
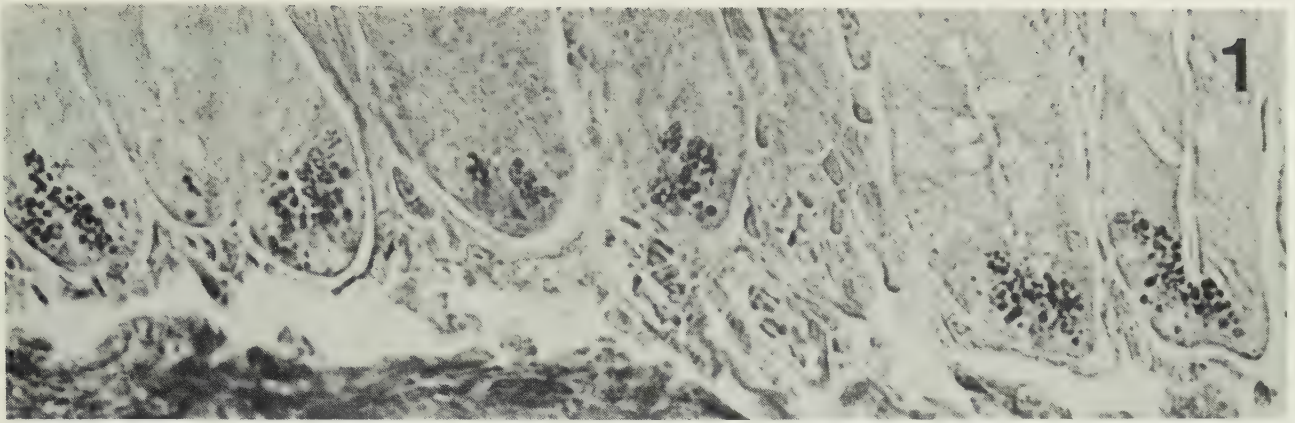
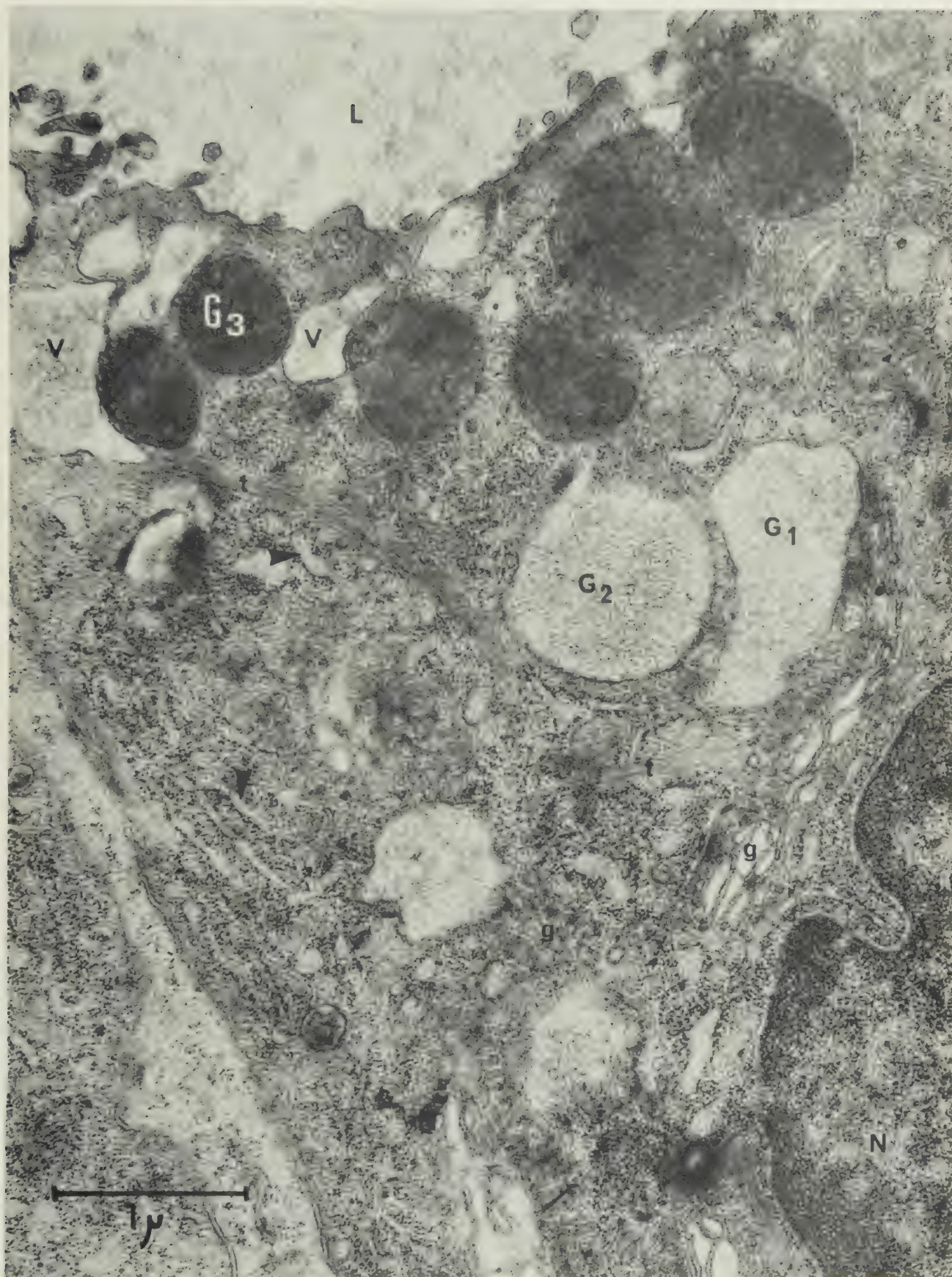


FIGURE 3



CHAPITRE IV-B

LE MECANISME D'EXOCYTOSE DES GRAINS DE ZYMOGENE

LE MECANISME D'EXOCYTOSE DES GRAINS DE ZYMOGENE

Le mode d'exocytose des grains de zymogène des cellules de Paneth n'a que peu été étudié à ce jour. TRIER en 1963 a envisagé un mode d'excrétion apocrine ; plus récemment STANLEY et TRIER (1965) ont mis en évidence un mode de sécrétion mérocrine chez la Souris à jeun.

Ayant fait la preuve de l'excrétion zymogénique des cellules de Paneth dans l'heure qui suit le repas, (cf. chapitre IV A) nous avons repris les observations optiques et ultra-structurales pour préciser, sur le plan cytologique, le mécanisme de dégranulation des cellules de Paneth.

Matériel et Techniques

Ce travail a été réalisé chez le Hamster. Comme dans l'expérimentation précédente, les animaux, à jeun depuis quarante huit heures, ont été réalimentés pendant dix minutes. Nous avons cependant multiplié les prélèvements dans la zone basse du jéjunum entre la vingtième et la soixantième minute qui suit l'interruption du repas.

Résultats

Dès la vingtième minute, bien que la charge granulaire apexienne des cellules de Paneth soit encore importante, nous avons noté des modifications dans la forme des cellules (fig. I). La cellule de Paneth, précédemment pyramidale haute (fig. Ia) acquiert un aspect pyramidal bas (fig. Ib). Simultanément la lumière glandulaire s'élargit. Cet aspect est retrouvé en microscop-

pie électronique. Les grains strictement sphériques chez l'animal à jeun, se déforment au contact de grains adjacents ; ils entrent en contact avec la membrane apexienne qui se linéarise ; les microvillosités s'effacent ; la zone de condensation hyaloplasmique sous-jacente aux microvillosités disparaît (fig. 2a). Au sein du cytoplasme apical le dispositif microtubulaire et tonofilamentaire est nettement visible, formant des faisceaux denses à disposition axiale.

A la trentième minute, la microscopie optique visualise de nombreuses images d'excrétion à l'intérieur de la lumière des glandes de Lieberkuhn. Le produit de sécrétion, après fixation n'est pas homogène. Il apparaît sous forme de trainées filamenteuses à disposition longitudinale dans la lumière (fig. 1c). La microscopie électronique permet de suivre le mécanisme d'expulsion du contenu zymogénique. La membrane plasmique entourant le grain de zymogène entre en contact intime et vient fusionner avec la membrane cellulaire apexienne (fig. 2b). Par ouverture du complexe membranaire apical, le contenu zymogénique est émis dans la lumière glandulaire (fig. 2c). La membrane du grain de zymogène s'intègre à la membrane apexienne qui pénètre ainsi plus profondément dans la cellule et atteint un grain de zymogène sous jacent qui lui-même peut alors fusionner (fig. 2c). Par ce processus le sommet des cellules de Paneth est progressivement amputé (fig. 2d). Des signes d'hypersécrétion golgienne apparaissent simultanément.

A la 45ème minute l'excrétion zymogénique est totale ; l'apex des cellules de Paneth et le contenu granulaire ont presque totalement disparu au niveau de certaines glandes (fig. 1d). La microscopie électronique visualise une déformation en cupule du sommet de la cellule de Paneth qui est déprimée, la membrane apicale étant très proche de la zone golgienne (fig. 2e). Quelques images de fusion granulaire persistent. La plupart des grains de zymogène apexiens sont nouvellement synthétisés par les dictyosomes golgiens ; ils ne présentent qu'une faible densité aux électrons (fig. 2e). Le dispositif microtubulaire et tonofilamentaire est encore très apparent. Les vésicules lisses au sein du cytoplasme apexien sont très nombreuses (cf. chapitre III B).

A partir de la 60ème minute le pôle apical des cellules de Paneth est progressivement reconstitué. Toutefois les grains de zymogène ne possèdent pas la densité observée chez les animaux à jeun (fig. 2f). L'appareil microtubulaire et tonofilamentaire est relaxé et peu visible.

Discussion

Cette étude confirme le rôle de la réalimentation sur la stimulation de la sécrétion zymogénique des cellules de Paneth. Toutefois nous devons signaler l'existence d'une sécrétion basale de cet élément cellulaire. En effet même chez l'animal à jeun nous avons pu observer, bien que moins nombreuses, des images d'exocytose analogues à celles rencontrées après réalimentation. La déformation en cupule du pôle est cependant rarement observée.

L'excrétion des cellules de Paneth s'effectue donc selon le mode mérocrine par fusions successives et séquentielles des membranes zymogéniques avec la membrane apexienne. Ce processus déprime progressivement l'apex cellulaire qui n'est reconstitué que secondairement. Les microvillosités et microfilaments nombreux dans la cellule de Paneth, participeraient au mécanisme. Ils pourraient jouer un rôle sur la tension intra-cytoplasmique et faciliter ainsi l'expulsion du contenu granulaire (cf. chapitre IV-1). Les images d'extrusion du contenu zymogénique, faisant hernie au sein de la lumière de la glande de Lieberkuhn, militent en faveur d'une telle hypothèse (fig. 2c).

Bien que mérocrine l'exocytose des grains de zymogène des cellules de Paneth diffère de celle observée au niveau de la cellule pancréatique. En effet au niveau de la cellule de Paneth, l'excrétion des grains de zymogène précède les mécanismes de reconstruction de l'apex. La membrane apicale n'est reconstituée que secondairement. Un processus similaire, au niveau des cellules séreuses à sécrétion amylasique de la glande parotide du Rat, a pu être observé par AMSTERDAM et Coll. (1969).

La fusion séquentielle des grains de zymogène aboutit à une extension considérable de la surface membranaire du sommet de la cellule. En accord avec PALADE (1959), il faut donc admettre que la restructuration de l'apex cellulaire implique une resorption membranaire. Depuis les travaux de BONNEVILLE et WEINSTOCK 1970, de FRIEND et FARQUHAR 1967, les vacuoles à revêtement lisse, nombreuses dans la cellule de Paneth (en particulier à la 45ème minute après le repas) doivent être la traduction de ce mécanisme. Ces vésicules, présentes entre les grains de sécrétion apexiens, viennent en effet fusionner avec les vacuoles de condensation dictyosomiques qui sont ultérieurement à l'origine du grain de zymogène (cf. chapitre III B). Il y aurait donc conser-

vation du "pool" membranaire de la cellule au cours du cycle sécrétoire.

Conclusion

Le mode de sécrétion des grains de zymogène de la cellule de Paneth est de type mérocrine. Il s'effectue par fusions successives des membranes entourant le grain de sécrétion avec la membrane apexienne. Les mécanismes de reconstruction de l'apex sont consécutifs au processus d'exocytose.

Les schémas de la figure 3 résument le mécanisme probable de l'excrétion des cellules de Paneth.

FIGURE 1

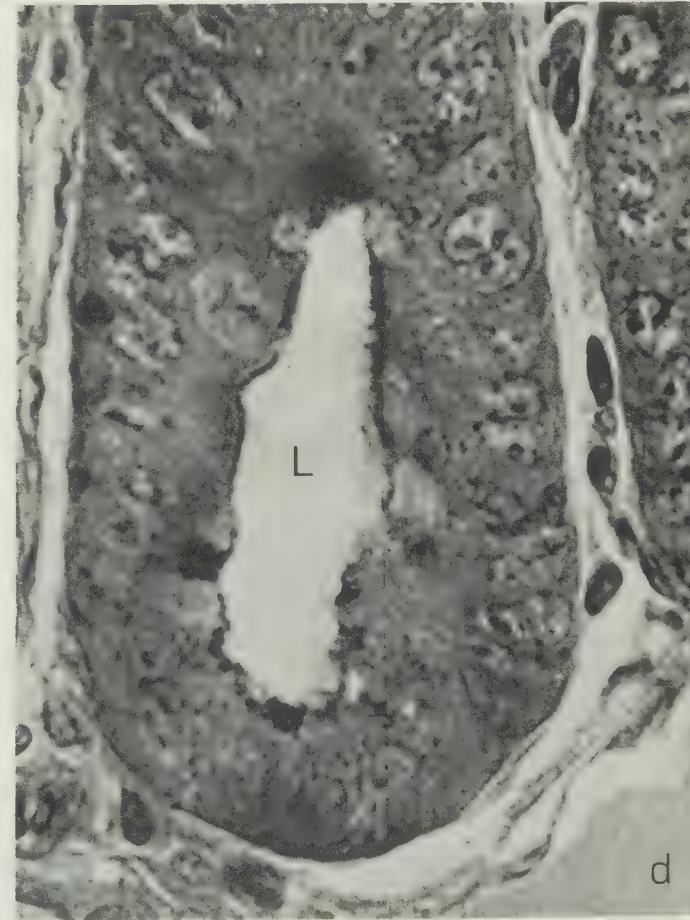
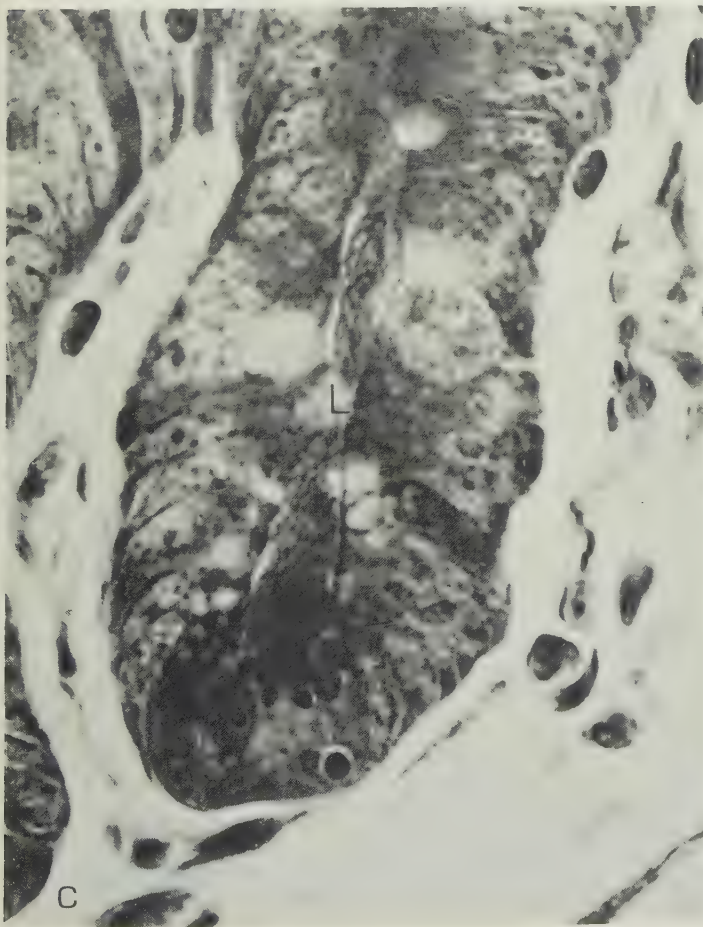
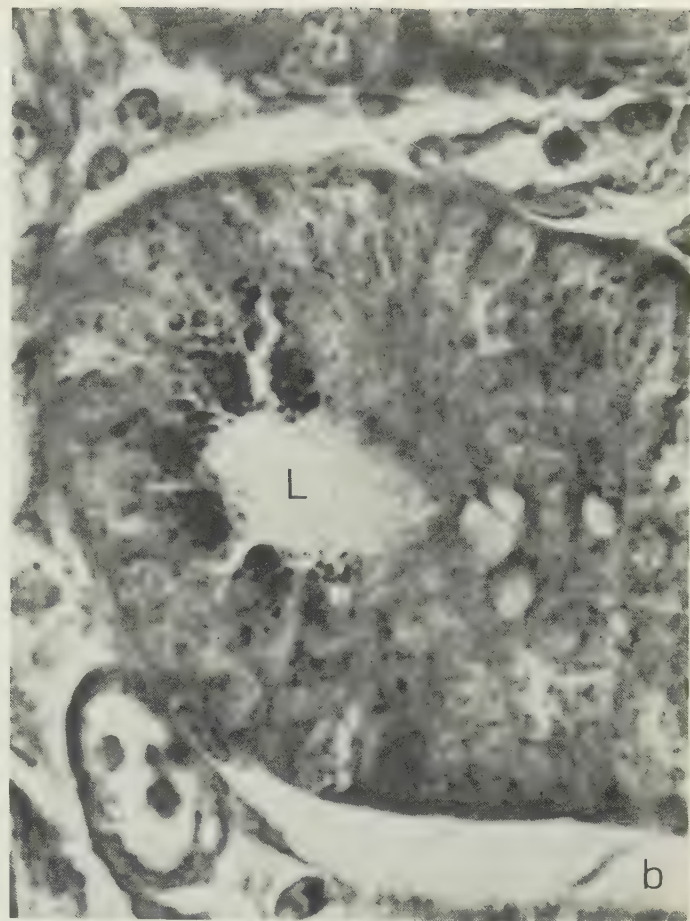


FIGURE 2

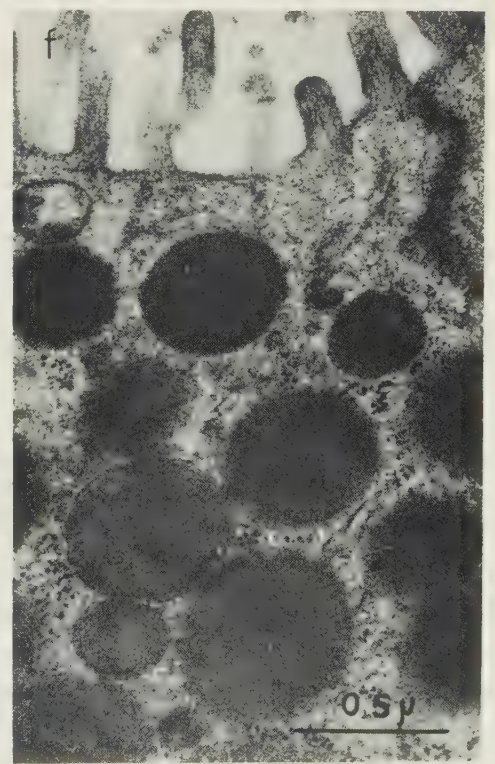
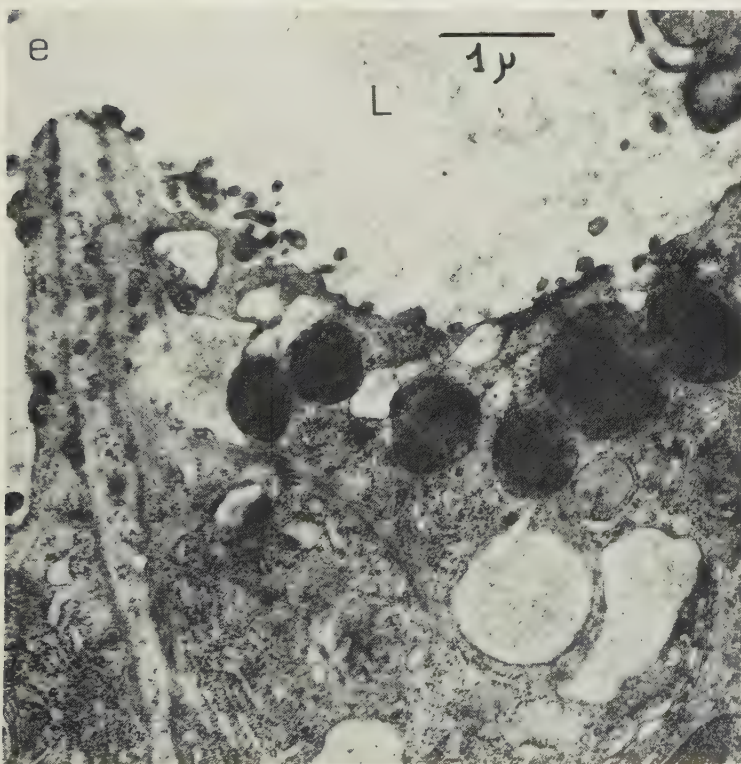
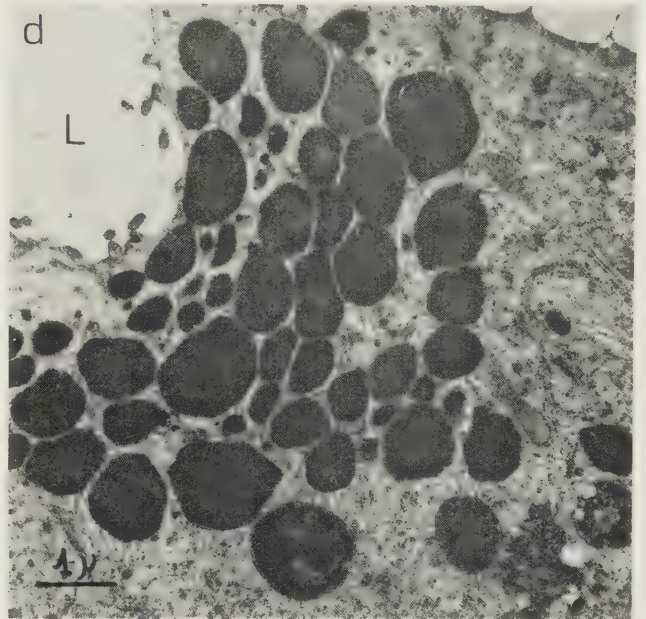
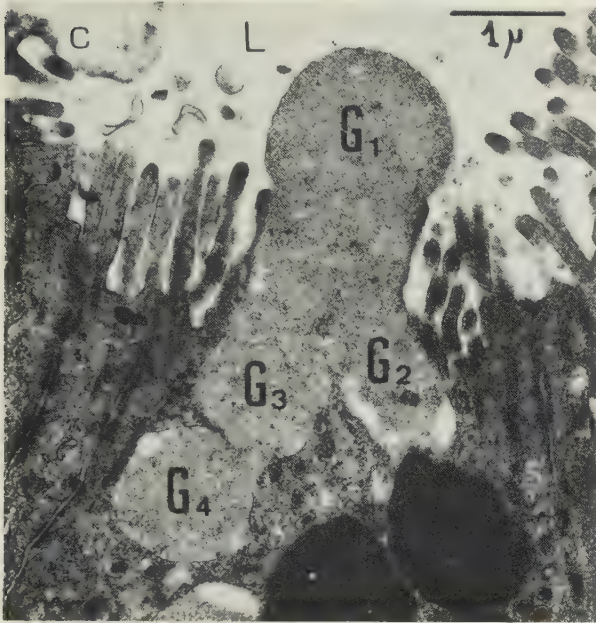
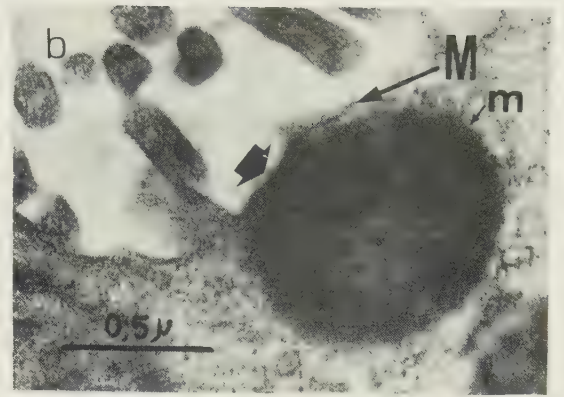
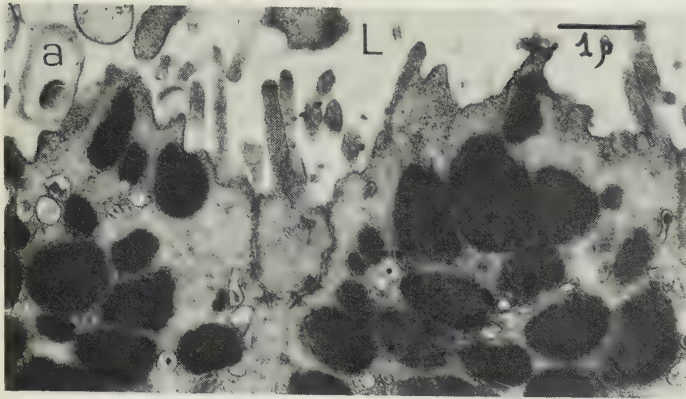
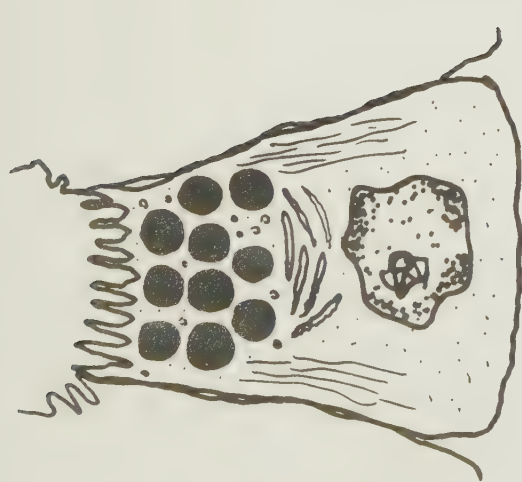


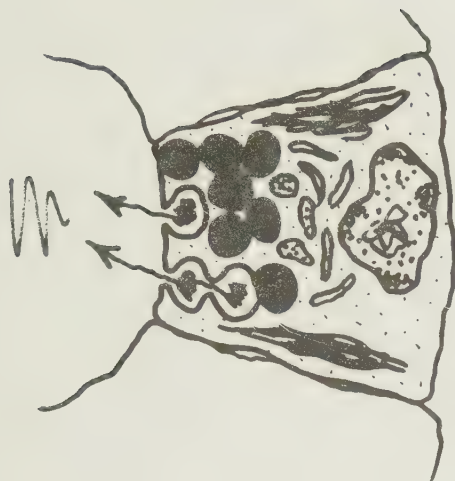
FIGURE 3



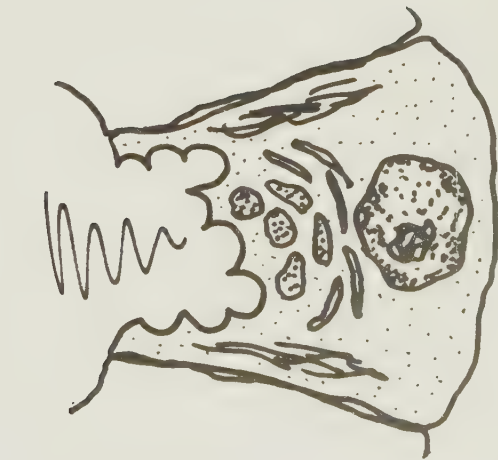
0 mn



15 mn



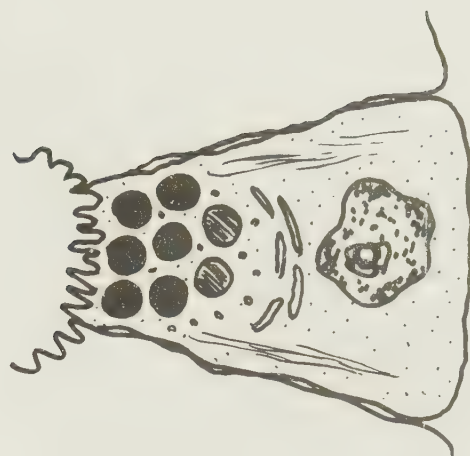
30 mn



45 mn



60 mn



90 mn

CHAPITRE IV-C

ETUDE DES MECANISMES DE REGULATION DE LA SECRETION
DES CELLULES DE PANETH AU COURS DE LA DIGESTION

ETUDE DES MECANISMES DE REGULATION DE LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH AU COURS DE LA DIGESTION

Chez le Hamster comme chez la Souris nous avons été frappé par l'existence d'un synchronisme de la réponse sécrétoire des cellules de Paneth même entre deux zones éloignées du tractus de l'intestin grêle (cf chapitre IV-A). Cette concomitance de réponse de l'ensemble des cellules de Paneth du grêle nous laisse supposer que l'excrétion de cet élément est sous la dépendance d'un mécanisme de régulation réflexe : la décharge granulaire ne se produirait pas par le simple contact des métabolites alimentaires avec l'épithélium intestinal lors du péristaltisme.

Il nous a donc paru nécessaire de confirmer expérimentalement ces hypothèses et dans ce but nous avons :

- 1°) - vérifié l'indépendance sécrétoire des cellules de Paneth vis à vis du contact direct des métabolites alimentaires au cours de la digestion intestinale.
- 2°) - déterminé, dans l'éventualité d'existence d'un mécanisme réflexe d'excrétion, la localisation, de la zone du tractus intestinal où est initiée la réponse sécrétoire de l'ensemble des cellules de Paneth.
- 3°) - tenté de préciser si le mécanisme réflexe est essentiellement nerveux ou hormonal.

PPROTOCOLE EXPERIMENTAL :

Nous avons procédé à deux types d'expérimentation.

A) EXPERIMENTATION I :

Chez les deux espèces animales, nous avons agi de la même façon, à savoir : pour obtenir la vacuité gastrique, les animaux sont soumis à la diète hydrique pendant 24 heures. Ils sont ensuite anesthésiés au Nembutal par voie intra-péritonéale à la dose de 50 mg/kg.

La cavité abdominale est ouverte par incision médiane de la région sus-ombilicale. Le coecum et les dernières anses de l'intestion grêle sont extériorisées et un court segment jéjunal témoin est réséqué à 5 cm environ du coecum. Les moignons de résection sont ligaturés, le moignon en amont de la section étant cathétérisé à la peau pour évacuer la sécrétion intestinale.

Les animaux sont ensuite scindés en deux groupes de 10 animaux.

a) - groupe I :

la jonction gastro-duodénale est obturée par une ligature sous-adventicielle au niveau du sphincter pylorique ; l'estomac est alors abouché à la peau par l'intermédiaire d'un cathéter qui dérive ainsi la sécrétion gastrique.

b) - groupe 2 :

l'intestin grêle est ligaturé au niveau du duodénum à 1,5 cm au-dessous de l'abouchement cholédocien. Le segment duodénal sus-jacent à la ligature est cathétérisé pour permettre l'évacuation à l'extérieur des sécrétions gastriques et pancréatico-biliaires.

Pour chaque groupe la cavité abdominale est ensuite suturée : les animaux reçoivent une injection antibiotique intra-péritonéale.

La diète hydrique est poursuivie 24 heures. Les Souris et les Hamsters sont alors réalimentés pendant dix minutes avec un aliment pour animaux de laboratoires (Aliment composé pour Hamster ou Souris - UAR - 7, rue du Maréchal Gallièni - 91 - Villemoison sur Orge) et sont sacrifiés 50 minutes après. De courts segments en aval et en amont du fragment jéjunal témoin sont

prélevés. Tous les prélèvements ainsi pratiqués ont été fixés six heures dans le liquide de Maximow puis lavés, déshydratés et inclus dans la paraffine.

B) EXPERIMENTATION II :

Nous avons pratiqué, chez le Hamster, des réalimentations de l'animal à jeun après vagotomie. Sur un groupe de 10 Hamster nous avons, sous anesthésie au Nembutal, sectionné les deux pneumogastriques au niveau de l'oesophage abdominal. Après 48 heures de jeûne les animaux sont réalimentés pendant dix minutes.

Un groupe témoin de 5 Hamster vagotomisés n'a pas été réalimenté.

Une expérience similaire a été réalisée sur un groupe de 10 Hamsters qui ont reçu une injection intra-péritonéale de sulfate d'Atropine (2 mg/kg) 15 minutes avant la réalimentation de l'animal. 10 Hamster ont été atropinisés mais non réalimentés.

Dans les deux cas, la zone basse du jéjunum est prélevée et fixée dans le liquide de Maximow 40 minutes après l'interruption de la réalimentation.

RESULTATS EXPERIMENTAUX :

Pour chaque prélèvement, nous avons effectué des numérations au niveau de 5 coupes transversales non sériées. Dans l'expérimentation I, pour tenir compte de l'influence éventuelle de l'intervention opératoire sur le taux de charge des cellules de Paneth nous avons également pratiqué des numérations sur des animaux non réalimentés 24 heures après la préparation expérimentale. Dans ces conditions les taux de charge des cellules de Paneth sur le segment jéjunal témoin et les segments amont et aval ne sont pas significativement différents.

TABLEAU DES RESULTATS :

- EXPERIMENTATION I

1) - Ligature pylorique

A - Souris

- 1) Avant réalimentation : $0,700 \pm 0,061$
- 2) Après réalimentation
 - a - segment Amont : $0,729 \pm 0,049$
 - b - segment Aval : $0,711 \pm 0,054$

B - Hamster

- 1) Avant réalimentation : $0,598 \pm 0,033$
- 2) Après réalimentation
 - a - segment Amont : $0,607 \pm 0,030$
 - b - segment Aval : $0,593 \pm 0,044$

2 - Ligature duodénale sous-cholédocienne

A - Souris

- 1) Avant réalimentation : $0,679 \pm 0,032$
- 2) Après réalimentation
 - a - segment Amont : $0,480 \pm 0,032$
 - b - segment Aval : $0,452 \pm 0,049$

B - Hamster

- 1) Avant réalimentation : $0,610 \pm 0,053$
- 2) Après réalimentation
 - a - segment Amont : $0,357 \pm 0,045$
 - b - segment Aval : $0,346 \pm 0,052$

Nous avons reporté ces résultats sur un graphique dont les histogrammes traduisent ainsi l'évaluation du taux de charge en grains sécrétoires des cellules de Paneth (figure 1).

La figure 2 visualise l'aspect histologique du fond des glandes intestinales pour chaque type de ligature.

- EXPERIMENTATION II

Taux de charge en grains sécrétoires des cellules de Paneth,

- chez l'animal vagotomisé et réalimenté : $0,404 \pm 0,029$
- chez l'animal vagotomisé et non réalimenté : $0,594 \pm 0,033$
- chez l'animal atropinisé et réalimenté : $0,272 \pm 0,033$
- chez l'animal atropinisé et non réalimenté : $0,572 \pm 0,031$

Les résultats sont transcrits sur la figure 3.

Ainsi, chez les deux espèces nous constatons l'absence de dégranulation des cellules de Paneth lorsque le transit digestif est interrompu au niveau du pylore.

Par contre la dégranulation de cet élément cellulaire se produit lorsque le transit digestif n'est interrompu qu'au niveau de la zone duodénale sous-cholédocienne. En effet dans ce cas la variation est largement significative et correspond à une perte atteignant 35 % du stock granulaire chez la Souris, 40 % chez le Hamster. Cette dégranulation est cependant moins importante que celle que nous avons pu observer lors de la réalimentation de l'animal simplement soumis au jeûne préalable (cf chapitre IV A).

Enfin, la dégranulation des cellules de Paneth se produit après réalimentation malgré la vagotomie ou l'atropinisation de l'animal.

DISCUSSION

La sécrétion des cellules de Paneth se produit sans l'intervention directe des métabolites alimentaires progressant dans la lumière intestinale : il s'agit donc d'une sécrétion réflexe apparaissant lors de la pénétration des aliments dans les premiers segments duodénaux.

Il faut en outre remarquer que l'excrétion des cellules de Paneth survient à la fois sur les segments jéjunaux en amont et en aval du prélèvement témoin (les taux de dégranulation étant comparables). Or la zone jéjunale aval, après prélèvement du segment témoin est isolée du système d'innervation intrinsèque sus-jacent ainsi que partiellement de l'innervation extrinsèque vagale. La dégranulation se produisant cependant, il nous semble logique de supposer que la sécrétion des cellules de Paneth au cours du repas est sous la dépendance d'un mécanisme essentiellement hormonal. Cette hypothèse paraît confirmée puisque les cellules de Paneth sécrètent après réalimentation de l'animal vagotomisé ou atropinisé. Toutefois le taux de dégranulation étant moins important que chez l'animal non vagotomisé, un mécanisme d'excrétion vagale ne peut donc être éliminé. D'ailleurs, comme la plupart des cellules

séreuses, la cellule de Paneth subit une dégranulation totale après injection d'un vagomimétique comme le chlorhydrate de pilocarpine (CORDIER.- 1923, TRIER et Coll., 1967).

Comme le montrent les expériences de ligatures intestinales étagées, l'élément élaborant l'hormone active sur la sécrétion de la cellule de Paneth doit se situer au niveau de la première partie du duodénum et probablement au niveau même de l'épithélium de revêtement intestinal. C'est précisément dans le duodénum que le pourcentage des cellules endocrines de l'intestion grêle est à son maximum.

FORSSMANN et ORCI (1969) ont déjà montré l'existence d'un cycle sécrétoire des cellules endocrines (cellules à gastrine) chez le Chat soumis au jeûne puis alimenté. D'autre part LAUMONIER et METAYER (1967), ont mis en évidence chez le Rat, une dégranulation des cellules de Paneth après injection de sérotonine. Or après visualisation des cellules entéro-chromaffines par la technique de Fontana ou la méthode de FALCK (1962), nous avons pu nous même constater un cycle sécrétoire des cellules endocrines chez la Souris et le Hamster : au niveau du duodénum les cellules endocrines sont en charge granulaire chez l'animal à jeun. Par contre, après réalimentation de l'animal les cellules entérochromaffines paraissent beaucoup moins nombreuses, leur charge granulaire ayant presque totalement disparue. Cette dégranulation est très précoce et totale 20 minutes après le début de la réalimentation. La dégranulation des cellules endocrines précède donc la sécrétion des cellules de Paneth, facteur qui semble donc confirmer le contrôle hormonal de l'excrétion de cet élément.

Nous avons donc été amené à vérifier l'influence de la sérotonine sur les mécanismes de sécrétion de la cellule de Paneth chez le Hamster (cf chapitre IV-F). Elle ne représenterait pas l'hormone directement active sur la sécrétion des cellules de Paneth.

Il nous est impossible, par ce type d'expérimentation de préciser le type d'hormone duodénale impliquée dans le processus sécrétoire local. Toutefois il s'agit probablement d'une des hormones polypeptidiques de la muqueuse gastro-duodénale. Classiquement l'"Entérocrinine" favorise la sécrétion zymogénique du suc intestinal. Mais ni l'isolement de l'hormone, ni la loca-

lisation précise dans le tractus intestinal des cellules sécrétant cette hormone n'ont pu encore être réalisés. Les études effectuées à ce jour sur les cellules endocrines de la muqueuse digestive et leur nature sécrétoire (LEFRANC et PRADAL 1971, CAPELLA 1969-1972, FORSSMANN 1970, SOLCIA 1970, VASSALO 1969, FREXINOS-BALAS-RIBET 1973) n'apportent pas d'élément nouveau sur ce domaine particulier.

Nous avons donc été amené à tester différentes fractions peptidiques extraites de la muqueuse duodénale (cf chapitre IV e et f).

- FIGURE 1 :

Variations du taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez le Hamster après réalimentation et ligatures intestinales

LP : Ligature au niveau du pylore

LD : " " du duodénum : à 1,5 cm au-dessous du cholédoque

T : prélèvement témoin

Am : prélèvement effectué en amont

Av : prélèvement effectué en aval

- FIGURE 2 :

Aspect de la charge granulaire des cellules de Paneth au cours des expériences de réalimentation et ligatures étagées

1) Ligature pylorique chez la Souris

2) " duodénale sous cholédocienne chez la Souris

3) " pylorique chez le Hamster

4) " duodénale sous cholédocienne chez le Hamster

a : segment jéjunal témoin, b : segment jéjunal amont, c : segment jéjunal aval.

La dégranulation des cellules de Paneth ne se produit que si les métabolites alimentaires pénètrent dans le duodénum (figures 2 et 4). Noter la présence d'images de sécrétion (flèches) chez le Hamster (figures 4 b et c)

- FIGURE 3 :

Variations du taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez le Hamster après vagotomie ou atropinisation.

FIGURE 1

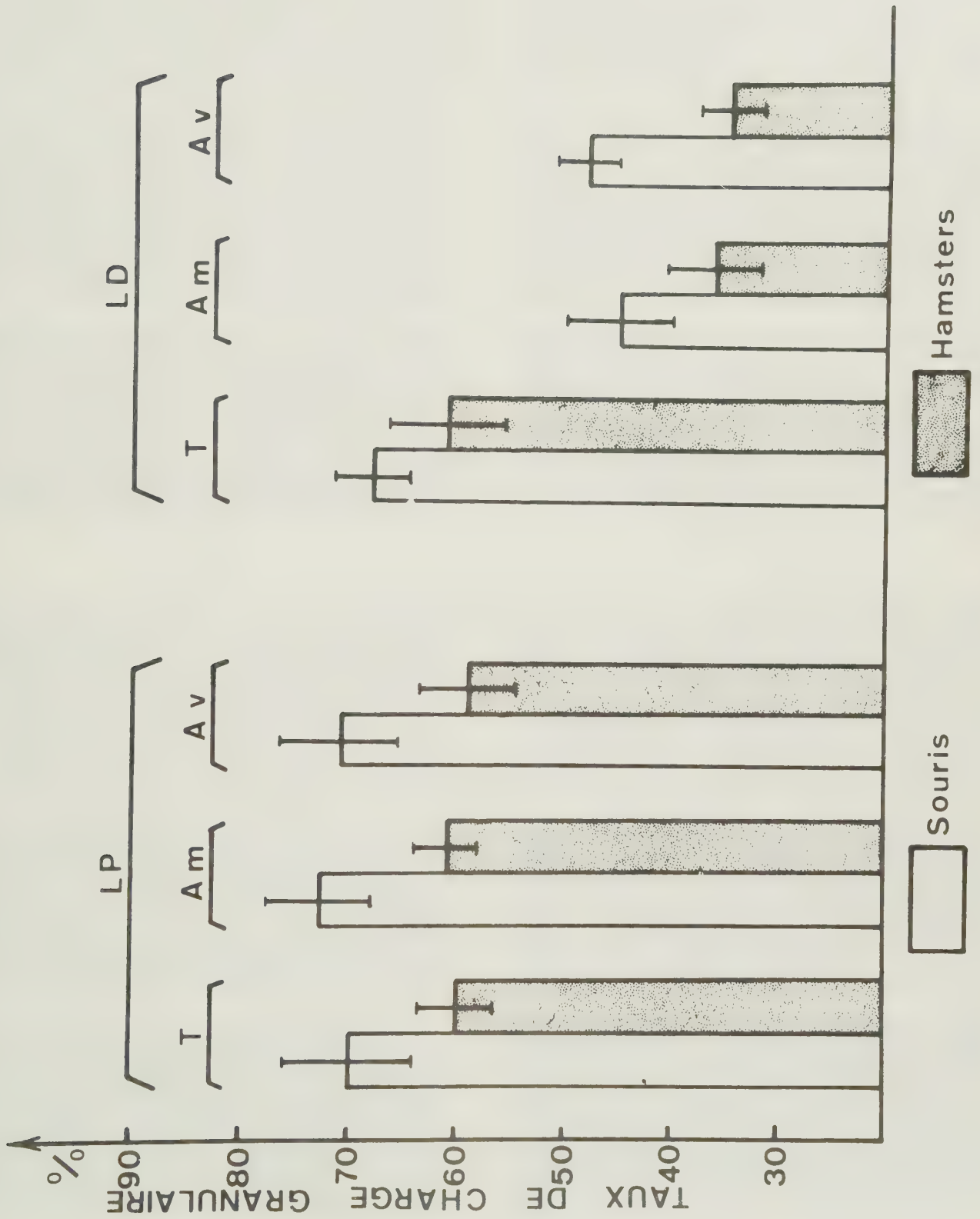


FIGURE 2

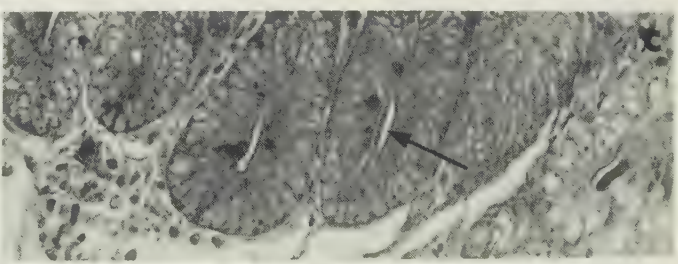
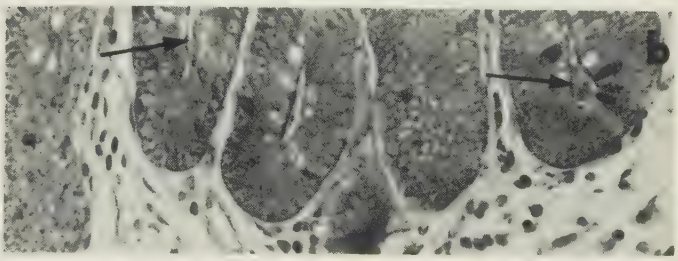
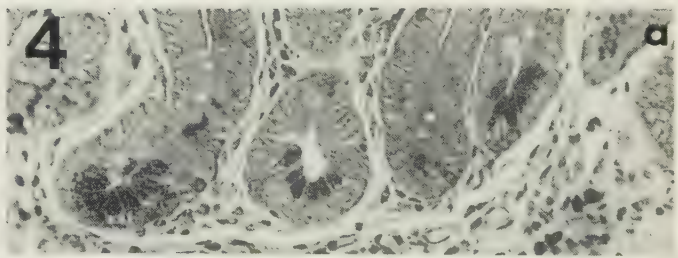
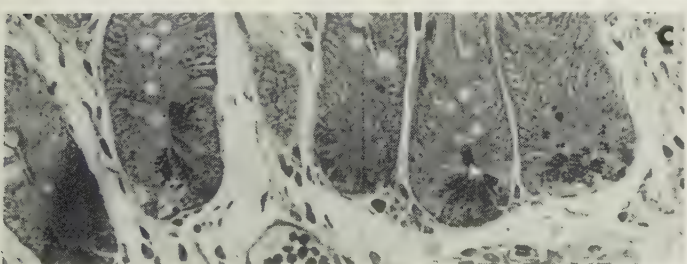
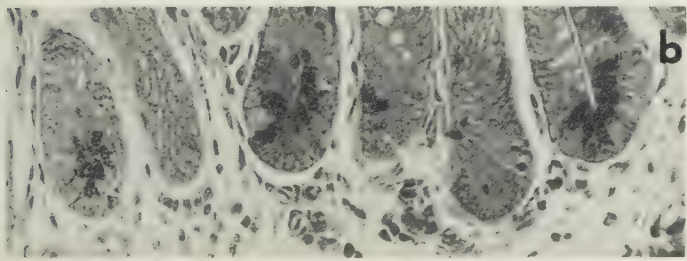
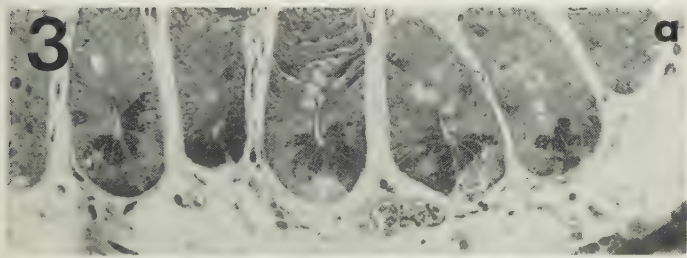
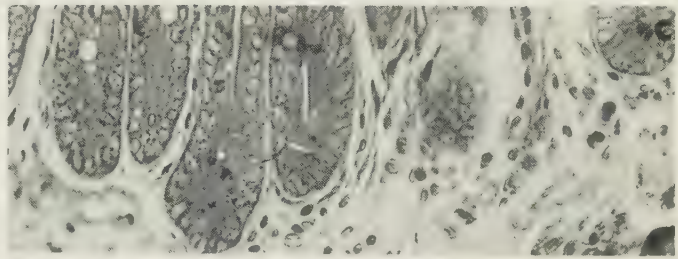
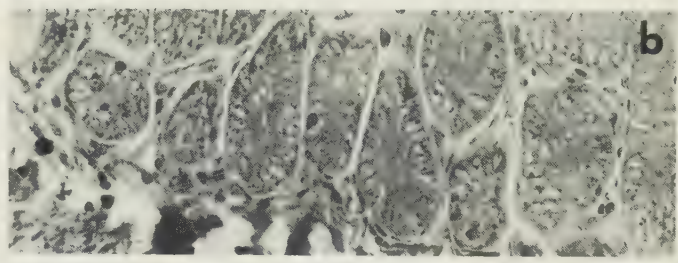
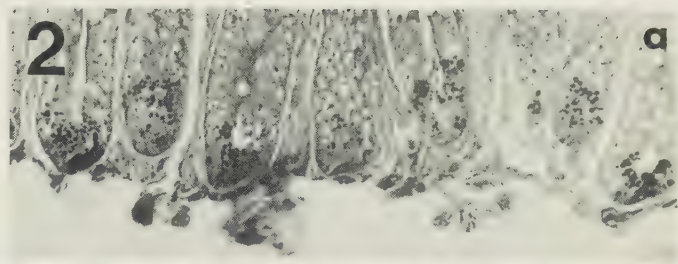
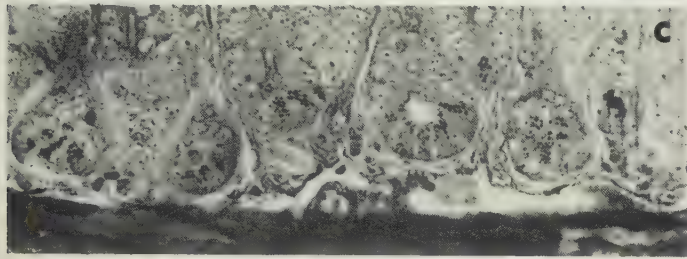
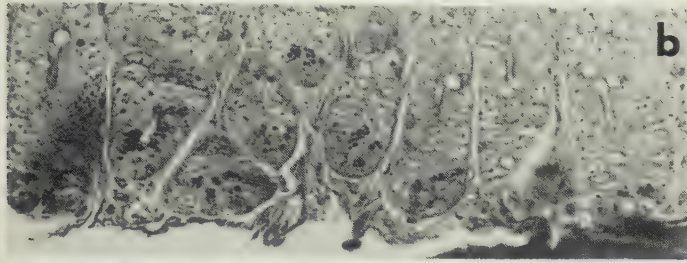
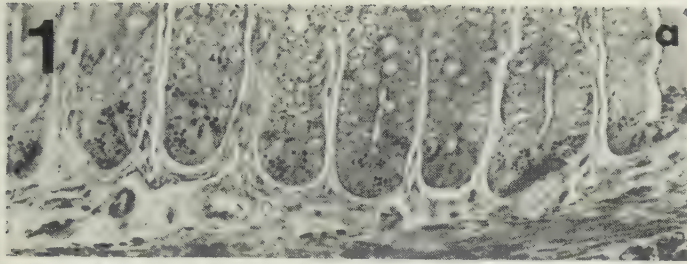
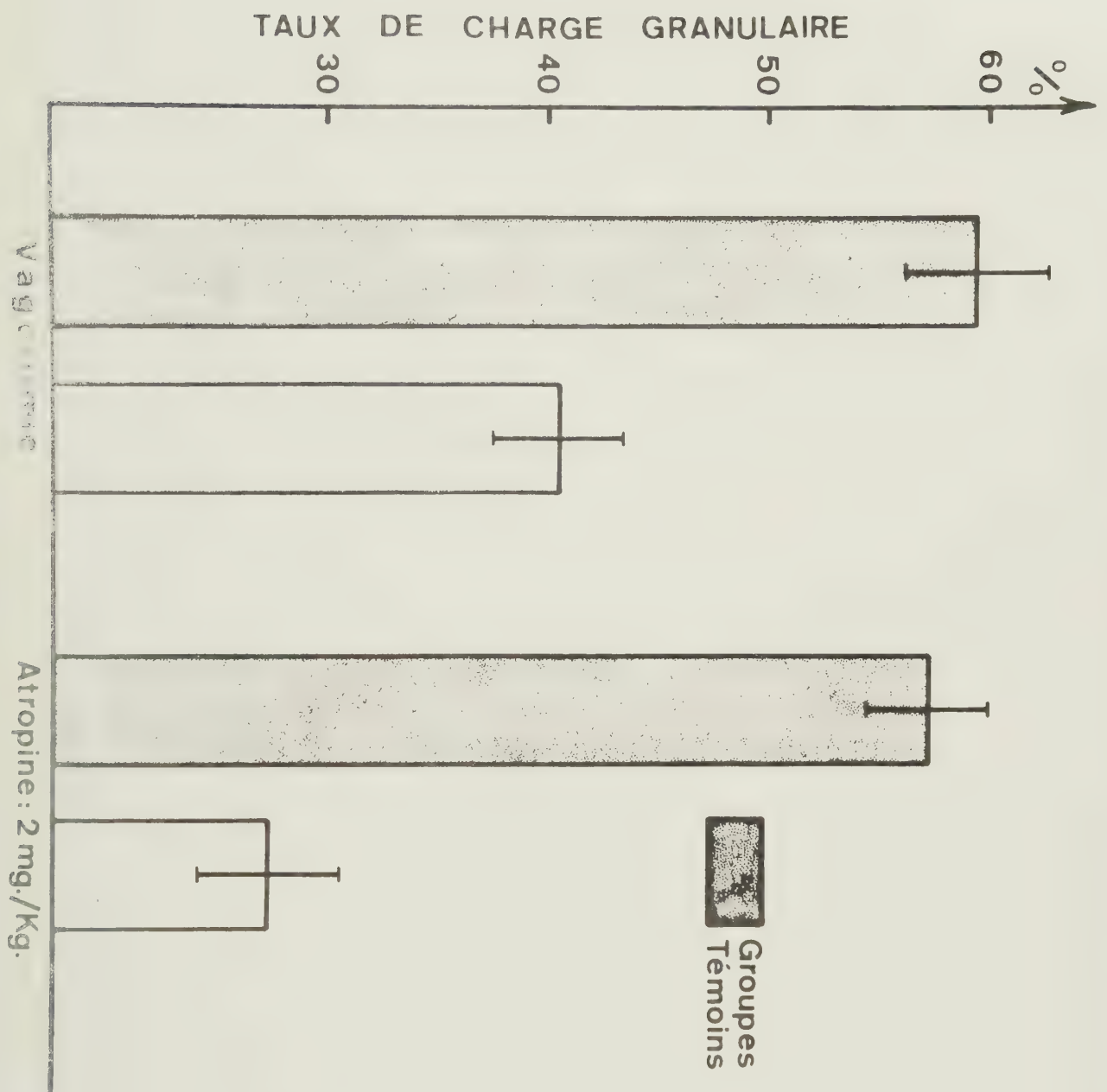


FIGURE 3



CHAPITRE IV-D

ETUDE DES FACTEURS ALIMENTAIRES PROVOQUANT LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH

ETUDE DES FACTEURS ALIMENTAIRES PROVOQUANT LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH

Nous avons pu mettre en évidence une dégranulation des cellules de Paneth après réalimentation de l'animal à jeun (cf. chapitre IV A). Il s'agit d'un mécanisme réflexe initié au moment de la pénétration des métabolites alimentaires à l'intérieur de la lumière des premiers segments duodénaux (cf. chapitre IV C).

Il semble donc logique de rechercher le, ou les facteurs spécifiques représentant le stimulus efficace sur la sécrétion des cellules de Paneth.

De nombreux auteurs se sont intéressés à l'influence du régime alimentaire sur l'aspect morphologique des cellules de Paneth. WINDISCH (1966) a déjà testé chez le Rat l'action de régimes chroniques et sélectifs : aucun régime (glucidique, lipidique ou protidique) ne modifie la répartition ou la charge granulaire des cellules de Paneth.

Le retentissement de l'ingestion d'un repas sélectif unique est beaucoup plus discuté ; les résultats obtenus par les différents auteurs sont contradictoires (KLEIN 1906, MIRAM 1912, MOLS 1930, OHNO 1950, WINDISCH 1966, BALAS 1970). MIRAM fait intervenir la digestion des protides et lipides dans le mécanisme excrétoire ; MOLS nie la participation des lipides et constate une augmentation de la charge granulaire des cellules de Paneth sous régime protidique ; au contraire OHNO et WINDISCH observent une dégranulation des cellules de Paneth sous un régime protidique. Chez la Souris nous avons pu observer une diminution de la charge granulaire des cellules de Paneth après

instillation d'huile d'olive dans la lumière duodénale sur l'animal anesthésié.

Tous les auteurs s'accordent cependant pour reconnaître que le régime joue un rôle sur le taux de charge des cellules de Paneth dans les heures qui suivent le repas sélectif. Les discordances observées sont peut être la conséquence de prélèvements effectués à des temps mal systématisés après réalimentation, donc à des étapes différentes du cycle sécrétoire des cellules de Paneth.

Nous avons donc repris cette étude pour tenter de préciser le facteur responsable de la sécrétion des cellules de Paneth lors de la pénétration des métabolites alimentaires dans le duodénum. Outre les régimes lipidiques, glucidiques et protidiques il nous a paru nécessaire de tester le rôle éventuel joué par l'acidification du duodénum.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL :

L'expérimentation a été réalisée sur la Souris anesthésiée ou le Hamster conscient.

Souris :

Des Souris mâles adultes, soumises à la diète hydrique pendant 48 heures, sont anesthésiées au Nembutal. Après ouverture de la cavité abdominale, le métabolite sélectif est introduit directement dans le duodénum par injection lente à la seringue (0,1 ml) ; les animaux ont été sacrifiés 40 minutes après l'instillation. Le prélèvement intestinal a été réalisé dans la zone basse du jéjunum.

Hamster :

Les mêmes types d'injection ont été pratiqués sur l'animal conscient par l'intermédiaire d'un cathéter abouché à la peau et introduit dans l'antré gastrique par passage à travers la paroi de la poche gastrique (une ligature fixe le cathéter à ce niveau). La préparation des animaux a été effectuée 24 heures avant l'expérimentation. Les animaux ont subi au total une diète hydrique de 48 heures avant l'introduction par le cathéter de 0,3 ml des

différentes solutions ; ils ont été sacrifiés 40 minutes après l'injection pour prélever la zone basse du jéjunum.

Des groupes de Hamster et de Souris (groupes témoins) ont été sacrifiés au décours immédiat du jeûne.

Chez les deux espèces nous avons instillé dans le duodénum :

- pour le régime protidique, une suspension à 10 % d'un hydrolysate protéique de "blanc de poulet" (E.T.N.A.) tamponné à pH 7.
- pour le régime lipidique : de l'huile d'olive.
- pour le régime glucidique, une solution d'amidon soluble à 10 % tamponnée à pH 7.

Nous avons également testé, selon le même protocole, l'influence de l'acidification du duodénum par instillation de solutions d'HCl pH 2,5 ou pH 5.

Enfin, pour éliminer la part éventuelle dévolue à la simple distension intestinale, nous avons injecté une solution tamponnée de sérum physiologique.

RESULTATS :

A - Souris

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth :

- Animaux témoins : $0,628 \pm 0,105$ (8 animaux)
- Régime glucidique : $0,594 \pm 0,086$ (7 animaux)
- Régime lipidique : $0,415 \pm 0,068$ (8 animaux)
- Régime protidique : $0,674 \pm 0,046$ (10 animaux)
- HCl pH 2,5 : $0,610 \pm 0,041$ (6 animaux)
- HCl pH 5 : $0,632 \pm 0,051$ (7 animaux)
- Sérum physiologique : $0,632 \pm 0,065$ (5 animaux)

B - Hamster

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth :

- Animaux témoins : $0,615 \pm 0,033$ (10 animaux)

- Régime glucidique : $0,587 \pm 0,032$ (8 animaux)
- Régime lipidique : $0,446 \pm 0,041$ (9 animaux)
- Régime protidique : $0,370 \pm 0,051$ (10 animaux)
- HCI pH 2,5 : $0,606 \pm 0,070$ (5 animaux)
- HCI pH 5 : $0,624 \pm 0,109$ (5 animaux)
- Sérum physiologique : $0,593 \pm 0,085$ (5 animaux)

Les résultats sont explicités sur les histogrammes de la figure 1 où l'astérisque souligne les taux significativement différents des témoins ($p < 0,01$).

Seuls les régimes lipidiques et protidiques ont un effet sécrétoire sur la cellule de Paneth. Le régime glucidique ainsi que l'acidification du duodénum paraissent sans effet. La distension duodénale provoquée par l'injection de sérum physiologique est également inefficace.

DISCUSSION :

Chez les deux espèces, le régime lipidique entraîne une dégranulation des cellules de Paneth. La microscopie optique montre de nombreuses images d'excrétion au sein de la lumière de la glande de Lieberkühn.

Par contre, il existe, entre les deux espèces, une dissociation des effets provoqués par le régime protidique. Chez le Hamster, l'excrétion cellulaire est comparable à celle observée après régime lipidique. Chez la Souris, nous n'avons pas observé d'images de sécrétion des cellules de Paneth ; le taux de charge granulaire augmente même (l'élévation du taux n'est cependant pas significative). Nous avons déjà constaté une élévation du taux de charge des cellules de Paneth chez cet animal après régime albumineux (BALAS 1970). En outre, l'observation microscopique semble plaider en faveur d'une stimulation de la synthèse zymogénique : de nombreux grains, néosynthétisés, sont souvent visibles au niveau de l'étage supra-nucléaire des cellules de Paneth.

La sécrétion des cellules de Paneth est donc influencée par le régime alimentaire. Les lipides représentent un facteur sécrétagogue essentiel aussi bien chez le Hamster que chez la Souris. Les protides ont une action excrétrice uniquement chez le Hamster. Une action similaire ne peut cependant

être éliminée chez la Souris. En effet l'augmentation du taux de charge à la 40 ème minute, associée à des images de synthèse granulaire, pourraient représenter un mécanisme de reconstitution du stock granulaire ; l'excrétion zymogénique ayant pu être plus précoce et fugace, échappant ainsi à notre observation à la 40 ème minute.

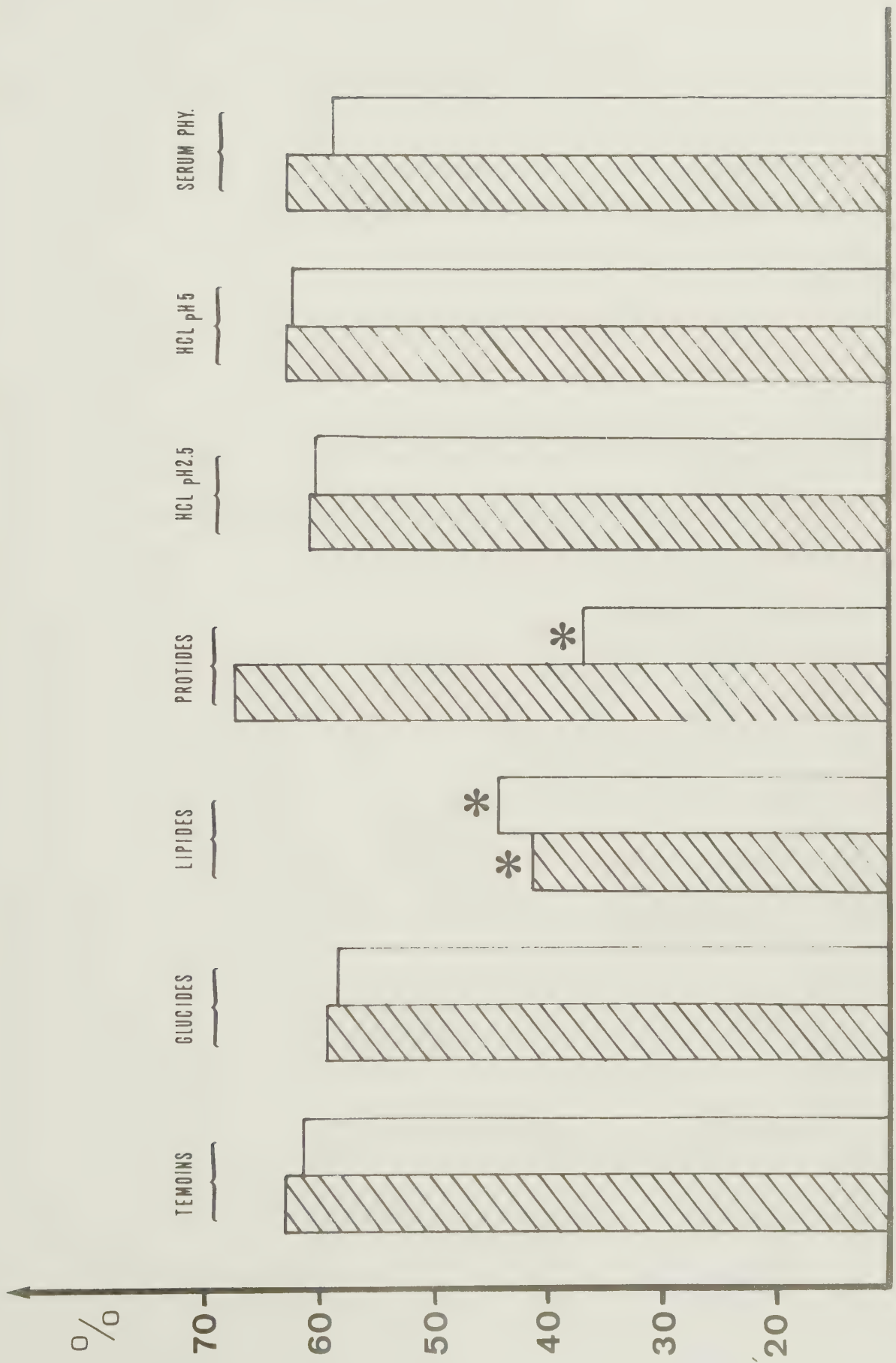
D'autres hypothèses peuvent être évoquées pour expliquer la dissociation observée entre les deux espèces sous régime protidique : chez la Souris l'expérimentation a été effectuée sous anesthésie ; le régime alimentaire est sensiblement différent entre les deux espèces (nécessité d'un apport protéique plus important chez le Hamster).....

Nous pensons ultérieurement vérifier ce point particulier en réalisant une étude dynamique des variations du taux de charge des cellules de Paneth au cours de l'heure qui suit l'administration de régimes sélectifs.

- FIGURE 1 :

Variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth après injection de différents métabolites dans la lumière duodénale chez la Souris (histogrammes hachurés) et chez le Hamster (histogrammes non hachurés).

FIGURE 1



CHAPITRE IV-E

ACTION D'EXTRAITS DUODENaux NON PURIFIES
SUR LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH

ACTION D'EXTRAITS DUODENaux NON PURIFIES SUR LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH

L'excrétion zymogénique des cellules de Paneth est accélérée dans les 40 minutes qui suivent la réalimentation de l'animal à jeûn (cf. chapitre IV A). Le mécanisme sécrétoire est initié par la pénétration des métabolites alimentaires (lipides et protides) dans la lumière du duodénum (cf. chapitre IV C et D). Ce mécanisme semble être sous dépendance essentiellement hormonale.

Avant de tester l'action des différentes hormones gastro-duodénales actuellement purifiées, il nous a paru souhaitable d'étudier l'action éventuelle d'extraits protéiques duodénaux moins spécifiques.

Matériel et techniques

Dans ce but nous avons utilisé deux types d'extraits. Ils correspondent aux premières étapes du schéma d'extraction (selon MUTT 1959) des hormones duodénales actuellement commercialisées et obtenues avec un haut degré de purification (hormones G.I.H.). Il s'agit :

- d'un extrait aqueux de poudre acétonique lyophilisée (N.B.C.) obtenue à partir d'un broyat de muqueuse duodénale de Porc.

- d'un extrait duodéal porcin lyophilisé à activité sécrétinique définie (hormone duodénale "Sécrétine", Sinbio).

Au préalable l'action hormonale des deux extraits a été testée sur la sécrétion pancréatique du Rat. Le canal cholédoque de Rats anesthésiés, a

été cathétérisé au niveau de l'abouchement duodénal ; la sécrétion biliaire est dérivée par cathétérisation du cholédoque à proximité du hile hépatique. Le débit sécrétoire est mesuré en suivant la progression du suc pancréatique à l'intérieur d'un microcathéter calibré et étalonné.

La stimulation du débit sécrétoire par la préparation Sinbio s'est avérée conforme à celle obtenue avec la même dose unitaire de sécrétine purifiée G.I.H.. Toutefois, rapportée au poids protéique, l'activité de la "Sécrétine" Sinbio est environ 70 fois moindre que celle de la préparation G.I.H. comme le montrent les valeurs spectrophotométriques obtenues à 280 nm :

- densité optique d'une solution de "Sécrétine" Sinbio 10µ/ml = 1,425
- densité optique d'une solution de "Sécrétine" G.I.H. à 10µ/ml = 0,025

Il faut donc admettre la présence de nombreuses autres fractions peptidiques associées à la fraction sécrétinique active.

L'extrait duodénal soluble (N.B.C.) que nous avons utilisé correspond à la première étape du schéma d'extraction ; il est exclu de pouvoir l'étalonner avec précision en unités sécrétiniques étant donné la pluralité des fractions protéiques contenues. Nous avons délibérément choisi, pour tester l'action éventuelle sur la cellule de Paneth, une dose d'extrait provoquant une élévation de 50 % du débit sécrétoire pancréatique entre les 5ème et 10ème minutes consécutives à une injection intra-veineuse unique chez le Rat. Cette dose correspond à 100 mg/kg, en valeur protéique.

L'action des deux extraits sur les cellules de Paneth a été étudiée chez le Hamster. Les animaux ont été soumis à une diète hydrique préalable de 48 heures. Ils reçoivent alors, en injection intra-péritonéale :

- 2, 5, 10, 20 unités par kg de "Sécrétine" Sinbio.
- 100 mg par kg d'extrait soluble duodénal N.B.C.

Les animaux sont ensuite sacrifiés par groupe de 10 :

- 7, 15, 30, 45, 60 minutes après l'injection de 10 μ /kg de "Sécrétine" Sinbio.

- 15 minutes après l'injection de 2,5 ou 20 μ /kg de "Sécrétine" Sinbio.

- 15, 30, 45, 60 minutes après l'injection de 100 mg/kg d'extrait duodénal N.B.C..

Des groupes de Hamsters témoins ont été sacrifiés immédiatement au décours du jeûne.

Les prélèvements, effectués dans la zone basse du jéjunum, ont été observés en microscopie optique et électronique.

Résultats

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth :

A. "Sécrétine" Sinbio :

- Animaux témoins:	0,608 $\pm$ 0,067
- 2 μ /kg, 15 mn après l'injection :	0,546 $\pm$ 0,094
- 5 μ /kg, 15 mn après l'injection :	0,326 $\pm$ 0,057 *
- 10 μ /kg, 7 mn après l'injection :	0,380 $\pm$ 0,010 *
- 10 μ /kg, 15 mn après l'injection :	0,272 $\pm$ 0,090 *
- 10 μ /kg, 30 mn après l'injection :	0,318 $\pm$ 0,012 *
- 10 μ /kg, 45 mn après l'injection :	0,488 $\pm$ 0,058
- 10 μ /kg, 60 mn après l'injection :	0,514 $\pm$ 0,013
- 20 μ /kg, 15 mn après l'injection :	0,266 $\pm$ 0,013 *

Les résultats sont explicités sur la figure 1.

B. Extrait aqueux de poudre acétonique N.B.C. :

- Animaux témoins :	0,582 $\pm$ 0,098
- 15 mn après l'injection :	0,652 $\pm$ 0,051
- 30 mn après l'injection :	0,662 $\pm$ 0,042
- 45 mn après l'injection :	0,764 $\pm$ 0,079 *

- 60 mn après l'injection : $0,796 \pm 0,036 *$

Les taux de charge granulaire suivis d'une astérisque sont significativement différents des témoins.

Discussion

L'hormone duodénale Sinbio provoque une diminution précoce et rapide du taux de charge granulaire des cellules de Paneth. L'injection de 5 unités par kg semble représenter la dose minimale efficace. Des doses supérieures ne provoquent pas une chute significativement plus importante du taux de charge des cellules de Paneth. Il n'est donc pas possible, histologiquement, d'établir une relation dose-action. La diminution du taux de charge correspond à un épisode d'excrétion cellulaire, en effet la microscopie optique montre à la 7ème ou à la 15ème minute la sécrétion zymogénique au sein de la lumière de la glande de Lieberkühn.(fig. 2c)

La microscopie électronique confirme la stimulation de la sécrétion sous l'action de l'hormone (fig. 3). Les grains de zymogène entrent en contact par leur membrane de recouvrement avec la membrane apexienne des cellules de Paneth. Il s'agit donc d'une image d'excrétion mérocrine. Le produit de sécrétion est retrouvé au sein de la lumière de la glande sous forme d'un matériel finement granuleux. L'excrétion zymogénique des cellules de Paneth après injection d'un extrait duodéal est donc, sur le plan morphologique, en tout point comparable aux images observées après réalimentation de l'animal à jeun. (cf. chapitre IV B)

Par la suite, entre la 30ème et la 60ème minute, la charge granulaire des cellules de Paneth se reconstitue (nombreuses images de néo-synthèse golgienne).

L'action de l'extrait duodéal N.B.C. s'oppose aux effets obtenus avec l'hormone duodénale Sinbio (fig. 2a). Dès la 15ème minute qui suit l'injection, le taux de charge granulaire des cellules de Paneth s'élève par rapport aux taux observés chez les animaux témoins, pour devenir significativement supérieur à partir de la 45ème minute. La microscopie optique révèle un accroissement de la maturation granulaire au niveau de l'étage supra nucléaire

des cellules de Paneth (fig. 2b) : de nombreux grains néo-synthétisés migrent vers l'apex cellulaire. La microscopie électronique confirme ce résultat et permet de visualiser une hypertrophie des dictyosomes ainsi que la présence de très nombreux grains immatures au sein de la zone vacuolaire centrale de l'appareil de Golgi.

L'extrait duodénal N.B.C. provoque donc une stimulation de la synthèse sécrétoire zymogénique des cellules de Paneth. Malgré l'augmentation importante du taux de charge granulaire, l'observation des préparations en microscopie optique ou électronique ne nous a pas permis d'affirmer l'existence d'un éventuel blocage de l'excrétion cellulaire concomittant à la stimulation de la synthèse.

Ces expérimentations viennent donc confirmer la présence d'un mécanisme hormonal controlant la sécrétion des cellules de Paneth (déjà évoqué au cours des chapîtres IV A, B et C); une ou plusieurs fractions peptidiques sont actives sur la sécrétion des cellules de Paneth. Cependant le degré de pureté des extraits injectés est insuffisant. Il est donc nécessaire de tester des préparations plus purifiées et en particulier celles actuellement commercialisées (hormones G.I.H.).

Toutefois l'action différente des deux extraits peut évoquer un double contrôle de la sécrétion des cellules de Paneth :

- contrôle de l'excrétion cellulaire (hormone Sinbio)
- contrôle de la synthèse cellulaire (extrait N.B.C.).

Figure 1 :

Variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth après injection intra-péritonéale de 10U/kg de "Sécrétine" Sinbio. Les histogrammes représentent les taux observés à la 15ème minute après injection de 2,5 ou 20U/kg.

Figure 2 :

a. Aspect morphologique des cellules de Paneth après injection intra-péritonéale de 100 mg d'extrait duodénal soluble N.B.C.. Noter l'importance de la charge granulaire à la 60ème minute. Coloration de Mallory-Cason x 125.

b. Aspect morphologique des cellules de Paneth 30 minutes après injection intra-péritonéale de 100 mg d'extrait N.B.C.. Noter les nombreux grains de sécrétion néo-synthétisés dans l'étage supra-nucléaire de la cellule (flèches). Coloration de Mallory-Cason x 500.

c. Aspect morphologique d'une glande de Lieberkühn 15 minutes après injection intra-péritonéale de 10U/kg de "Sécrétine" Sinbio. Les cellules de Paneth sont en voie d'excrétion. Noter la présence du produit de sécrétion à l'intérieur de la lumière glandulaire (flèche). Coloration de Mallory-Cason x 500.

Figure 3 :

a. Aspect ultrastructural d'un fond de glande de Lieberkühn 15 minutes après l'injection de 5U/kg de "Sécrétine" Sinbio. Les cellules de Paneth sont en voie d'excrétion mérocrine ; les pôles apicaux sont déformés en cupule (flèches) ; la lumière glandulaire (L) est élargie.

b. A un plus fort grossissement on reconnaît des images typiques d'exocytose des grains de zymogène (flèches).

FIGURE 1

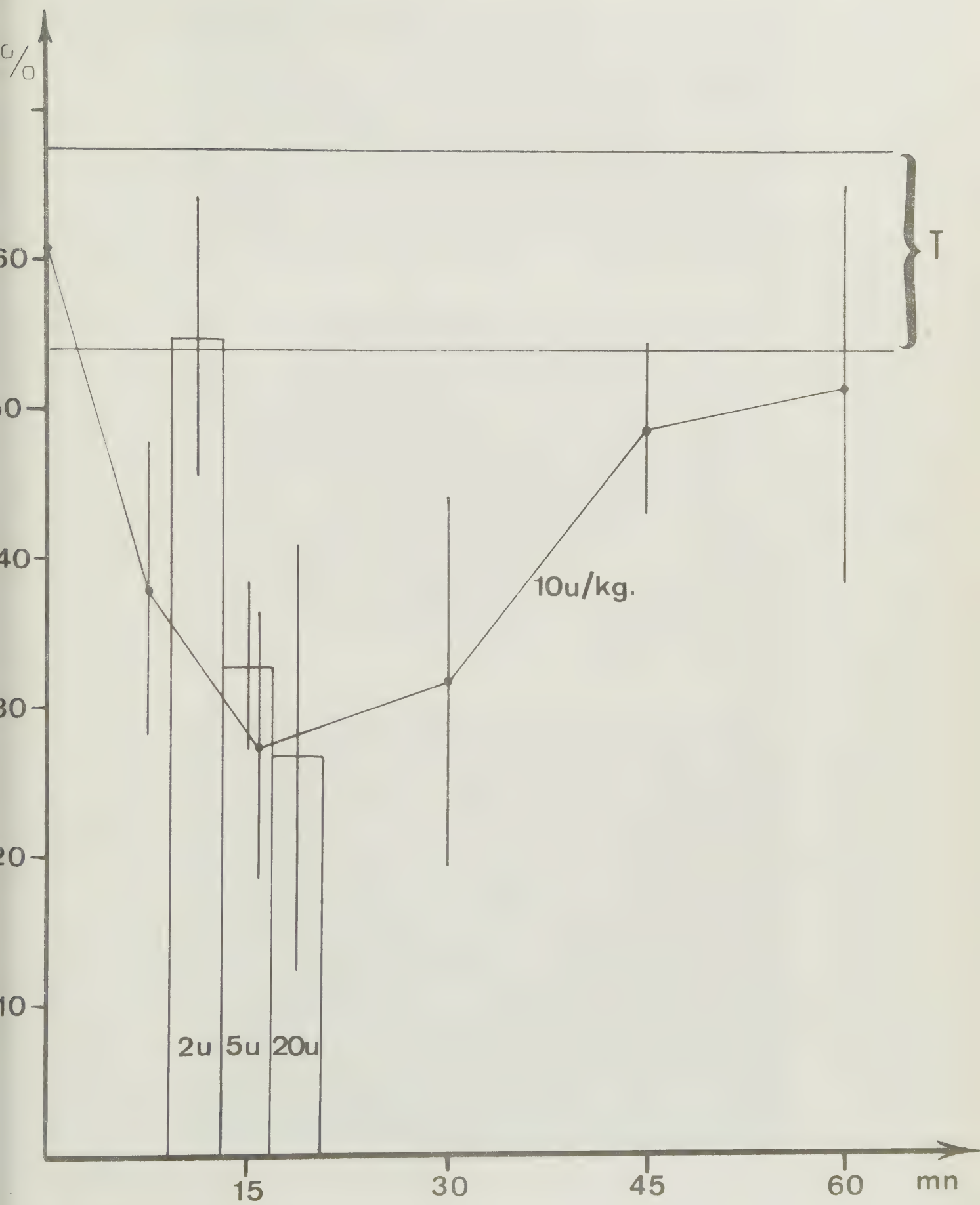


FIGURE 2

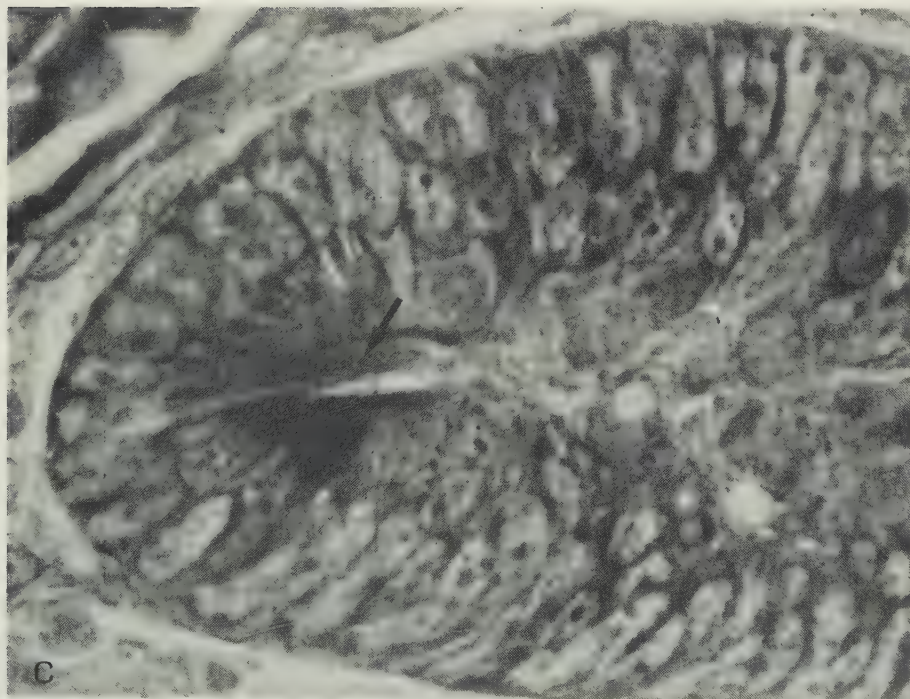
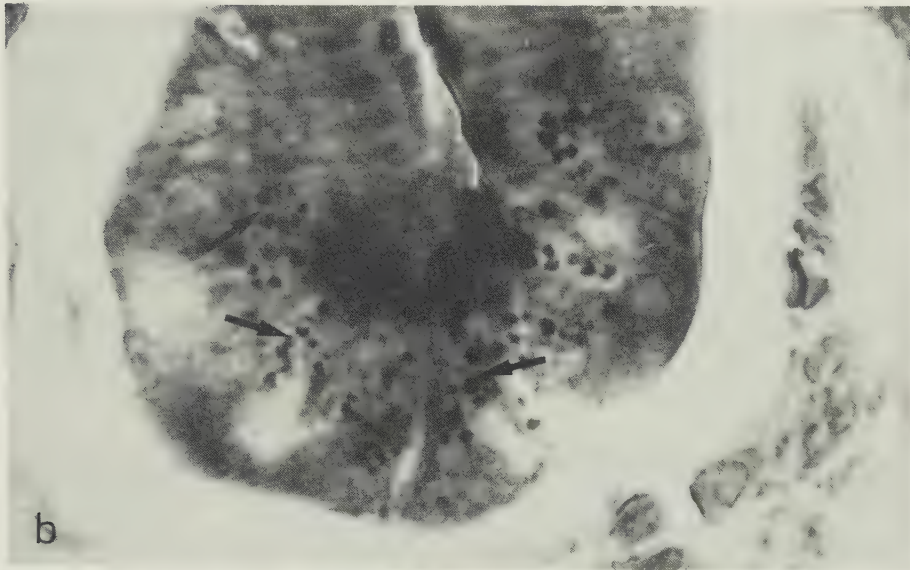
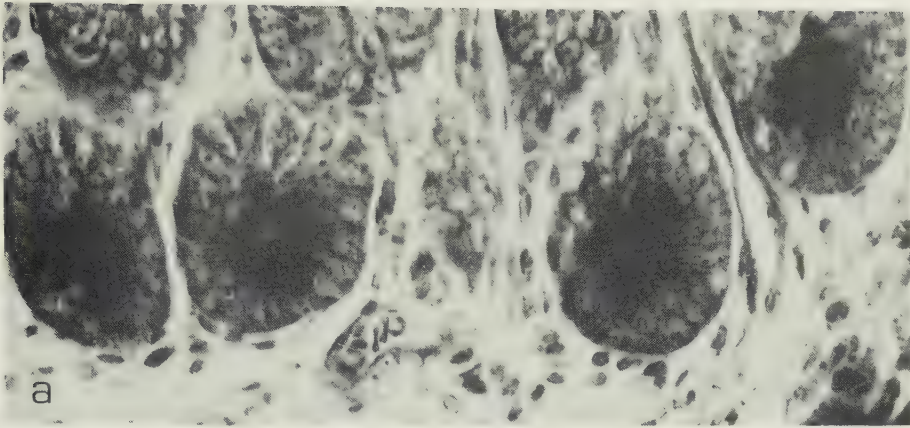
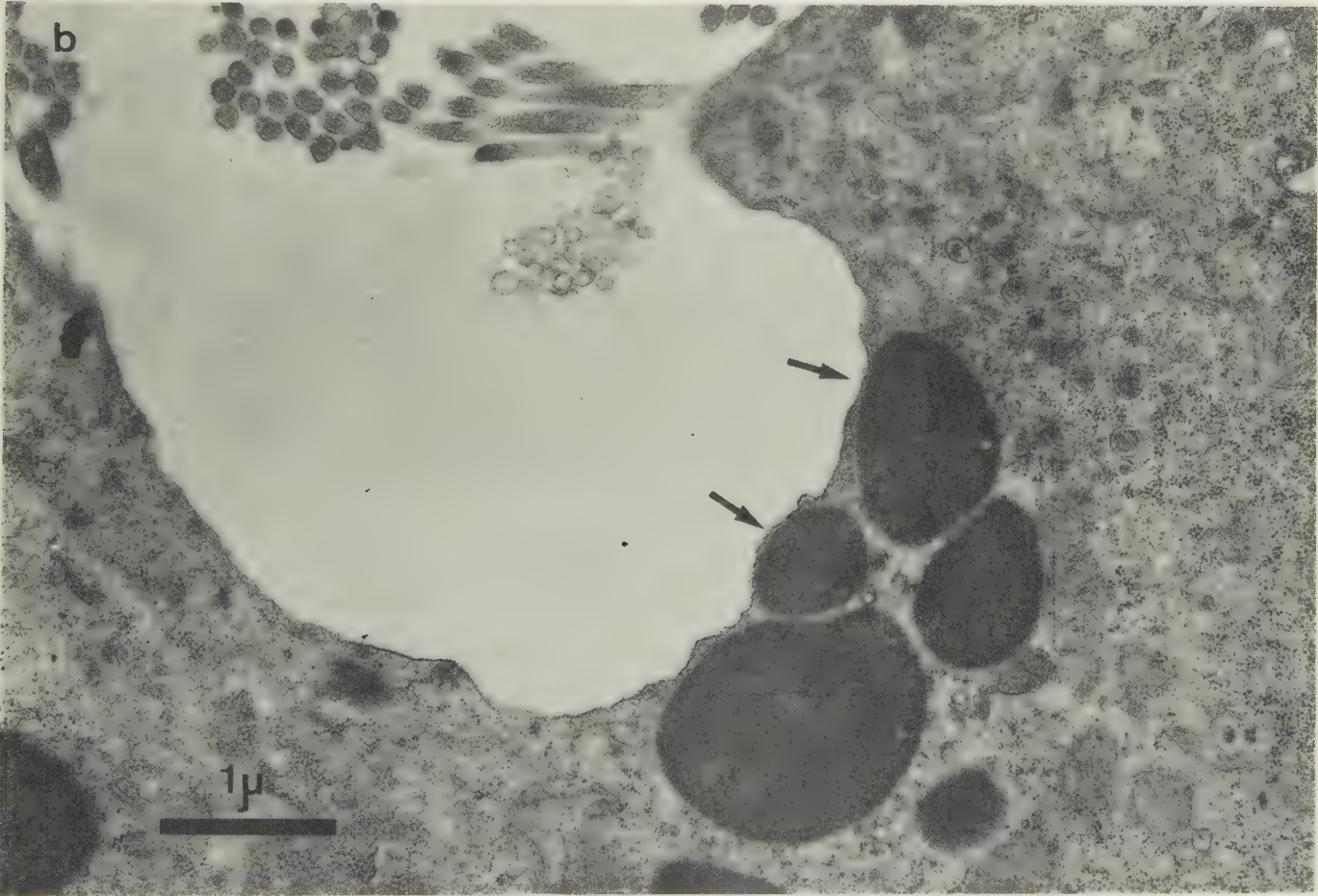
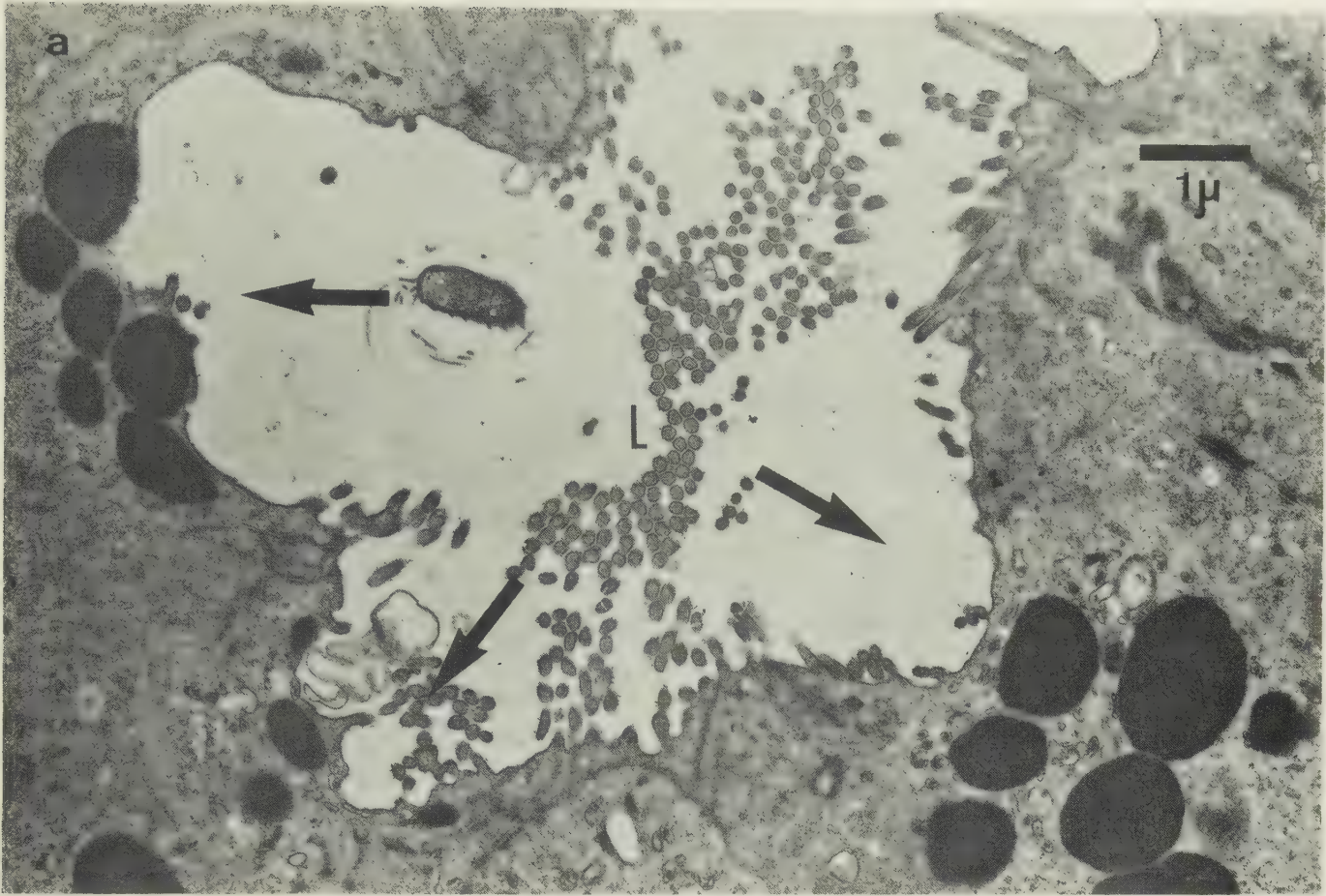


FIGURE 3



CHAPITRE IV-F

ACTION DES HORMONES GASTRO-DUODENALES PURIFIEES
SUR LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH

ACTION DES HORMONES GASTRO-DUODENALES PURIFIEES SUR LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH

Nous avons pu mettre en évidence un mécanisme réflexe contrôlant la sécrétion des cellules de Paneth au cours de la réalimentation de l'animal à jeun. Le mécanisme paraît être essentiellement de type hormonal ; d'ailleurs l'injection d'extraits bruts protéiques de muqueuse duodénale modifie la synthèse granulaire et l'excrétion des cellules de Paneth (cf chapitre précédent).

Il semble donc logique de tester l'influence respective, sur les cellules de Paneth, de différentes hormones gastro-duodénales actuellement purifiées : (Sécrétine, Cholécystokinine-Pancréozymine (C.C.K.-PZ), Histamine, Sérotonine) ou des homologues de synthèse (Pentagastrine, Caeruléine).

Matériel et méthodes

L'étude est réalisée sur des groupes de Souris et de Hamster âgés de 3 mois en moyenne.

Les animaux sont systématiquement soumis à une diète hydrique préalable de 48 heures. Ils reçoivent alors une injection intra-péritonéale unique d'une des hormones ou d'un des polypeptides apparentés suivants :

- 1 - Pentagastrine (ICI) aux doses de 3,6 ou 12 μ g/kg
- 2 - Sécrétine (GIH) aux doses de 1, 2, 3, 5 ou 10 u/kg
- 3 - Histamine (Histamyl PLE) aux doses de 0,1, 0,5 ou 1 mg/kg
- 4 - Cholécystokinine-pancréozymine (CCK-PZ) (GIH) aux doses de 1, 2, 3
5 ou 10 u/kg
- 5 - Caeruléine (Farmitalia) aux doses de 0,1, 1 ou 10 μ g/kg

Par groupe de 10, les animaux sont ensuite sacrifiés toutes les 15 minutes. Dans tous les cas les prélèvements ont été effectués au niveau du jéjuno-iléon, du jéjunum moyen, de la partie supérieure du jéjunum.

Les pièces ont été fixées dans le liquide de Maximow, déshydratées et incluses dans la paraffine.

A partir des coupes colorées, soit par le trichrome de GABE et MARTOJA, soit par la méthode de MALLORY-CASON, une évaluation quantitative de la charge granulaire des cellules de Paneth a été réalisée au niveau de la partie basse du jéjunum.

A des fins histochimiques certaines pièces ont été fixées dans le formol isotonique, le formol de Baker ou traitées par freezing-drying.

La mise en évidence de cellules mastocytaires a été réalisée par la technique de CSABA et par la métachromasie au bleu de Toluidine 0,1 % tampon Millonig pH4. La mise en évidence de l'histamine a été faite par les techniques de LAGUNOFF et la présence des protides a été étudiée par trois réactions générales du groupe, réaction au jaune naphтол S (caractère électropolaire), la méthode de BARNETT et SELIGMAN (groupes carboxyliques-C-terminaux) et la méthode de YASUMA et ICHIKAWA (groupes aminés libres).

Ces différents techniques sont décrites de façon détaillée dans le précis d'Histochimie de JOLLES et GANTER (1970).

Sur le plan ultrastructural, des fragments de jéjuno-iléon ont été fixés par la glutaraldéhyde à 3 % dans un tampon Sørensen pH 7,4 ajusté à 450 milliosmoles, puis post-fixés dans le tétroxyde d'osmium à 2 % et déshydratés par des alcools à concentration croissante. L'inclusion a été réalisée dans l'Epon-Araldite selon une technique rapide (cf chapitre III). Les coupes ont été effectuées sur ultramicrotome Reichert OMU III et observées au microscope Hitachi HU 11 A sous tension de 75 kilovolts.

Résultats

Quel que soit l'hormone ou le "polypeptide apparenté" utilisé, aucune modification morphologique majeure n'a été constatée au niveau des entérocytes ou au niveau des cellules caliciformes de la muqueuse de recouvrement de l'intestin grêle. Seules les cellules de Paneth subissent des variations de leur charge granulaire comme le montrent les tableaux de résultats (tableaux I et II).

1) Pentagastrine

Chez les 2 espèces animales nous n'avons jamais noté de modifications cytologiques des cellules de Paneth après injection de Pentagastrine (figure 1).

2) Sécrétine

Trente minutes après injection de 10 unités de Sécrétine, chez le Hamster, on note une légère diminution du taux de charge granulaire des cellules de Paneth ; mais cette différence n'est pas significativement différente du taux observé chez les animaux témoins (figure 1).

3) Histamine

L'histamine, quelle que soit la dose utilisée, ne provoque pas de modifications importantes sur le taux de charge granulaire des cellules de Paneth. On note cependant, à la 30 ème minute chez le Hamster (figure 1), à la 15 ème minute chez la Souris, une diminution du taux de charge mais cette diminution n'est pas significative et ne paraît pas correspondre tant en microscopie optique qu'électronique à une dégranulation cellulaire.

4) Cholécystokinine-pancréozymine (CCK-PZ)

La charge granulaire des cellules de Paneth varie après injection de CCK-PZ. Des doses de 2 à 3 unités représentent la dose minimale efficace. L'action de la CCK-PZ est particulièrement nette sous 10 u/kg (figures 2 et 3). Jusqu'à la 30 ème minute on assiste à une diminution du taux de charge zymogénique, moins importante chez la Souris que chez le Hamster et atteignant chez ce dernier une chute de 50 % par rapport au taux de base observé chez les animaux témoins. Cette diminution de la charge granulaire correspond à un épisode d'excrétion cellulaire (figures 4a-b et 5a). En effet la microscopie optique permet de visualiser de fréquentes images du produit de sécrétion zymogénique au sein de la lumière de nombreuses glandes de Lieberkühn. L'excrétion granulaire est confirmée, chez le Hamster, par la microscopie électronique : on peut observer de nombreuses images d'excrétion mérocrine des grains au pôle apical des cellules de Paneth (figure 5a). L'émission du contenu des grains de sécrétion au sein de la lumière de la glande modifie l'aspect cytologique du sommet de la cellule. L'apex cellulaire est déprimé, les microvillosités disparaissent, la membrane plasmique dessine un arc dont la concavité est dirigée vers la lumière glandulaire. L'excrétion cellulaire est donc de type

mérocrine (cf chapitre IV-B).

A partir de la 45 ème minute qui suit l'injection de CCK-PZ on note une reconstitution du taux de charge granulaire aboutissant à partir de la 60 ème minute, plus particulièrement chez la Souris, à une élévation supérieure au taux observé chez les animaux témoins (figures 2 et 3). Ce phénomène de surcharge granulaire persiste jusqu'à la 90 ème minute consécutive à l'injection d'hormone. Corrélativement en microscopies optique et électronique des images en faveur d'une synthèse granulaire apparaissent au niveau du 1/3 médian de la cellule de Paneth (figures 4c et 5b). Les premières images de synthèse sont parfois visibles dès la 30 ème minute, donc sur des cellules en voie d'excrétion (figure 5a). Dès la 45 ème minute les images d'excrétion mérocrine disparaissent, le pôle apical est reconstitué, les microvillosités sont nombreuses. De nombreux grains de zymogène immatures migrent de la zone golgienne vers le sommet de la cellule. Sur le plan ultrastructural les dictyosomes sont nombreux, hyperplasiés et sécrètent vers la zone centrale golgienne de nombreuses vacuoles volumineuses, encore irrégulières, représentant les précurseurs des grains de zymogène (figure 5b).

Dès la 30 ème minute, uniquement chez la Souris, la charge granulo-basale augmente dans certaines cellules des glandes de Lieberkühn (figure 4d). Cet aspect cytologique se maintient jusqu'à la 75 ème minute ; il est net avec des doses hormonales supérieures à 5 unités de CCK-PZ. Sur le plan ultrastructural ces cellules sont caractérisées par un cytoplasme clair, pauvre en réticulum granulaire ; la zone golgienne est bien développée. La zone sous-nucléaire de la cellule est occupée par des grains sécrétoires volumineux et denses, parfois sphériques, plus souvent irréguliers et de contour géométrique. En histochimie les grains sécrétoires se révèlent alcianophiles par la technique de Csaba, positifs aux techniques de Lagunoff mais non métachromatiques au bleu de Toluidine 0,1 % dans un tampon Millonig pH 4. Les grains possèdent également un contingent protidique important nettement mis en évidence par les réactions générales des protéines.

5) Caeruléine

Pour des doses supérieures à 1 µg/kg, la caeruléine produit des résultats comparables à ceux provoqués par l'injection de CCK-PZ, tant sur le plan de la variation du taux de charge granulaire (tableau I et II) que sur l'aspect morphologique des cellules de Paneth. Toutefois nous n'avons

jamais noté de variations importantes au niveau des cellules intra-épithéliales à granulations basales même en utilisant des doses de Caeruléine (10 µg/kg) nettement supérieures à celles nécessaires pour obtenir une stimulation de la sécrétion pancréatico-biliaire. Comme après injection de CCK-PZ, la Caeruléine après un bref phénomène excrétoire entraîne une stimulation de la maturation granulaire golgienne.

6) Sérotonine

Aux doses physiologiques habituellement utilisées, la sérotonine ne provoque pas de modification notable du taux de charge des cellules de Paneth (tableau I et II). Nous avons cependant obtenu une dégranulation des cellules de Paneth en utilisant une dose de sérotonine très élevée, à la limite de la léthalité : 500 µg/kg (figure 6). Sous cette dose la réaction de l'animal est très particulière. Après un épisode de latence de 2 à 3 minutes, l'animal est brutalement agité par des épisodes convulsifs et cloniques accompagnés de phénomènes d'agressivité. Après un délai d'une dizaine de minutes l'animal tombe, pendant une heure, dans un état de prostration.

Malgré l'importance des doses à utiliser nous avons envisagé une participation effective de la Sérotonine dans le mécanisme sécrétoire des cellules de Paneth (Balas - 1970). Pour vérifier l'action physiologique éventuelle de la Sérotonine sur cet élément cellulaire, nous avons repris l'expérimentation sur des fragments d'intestin incubés in vitro à 38° dans du liquide de Tyrode oxygéné avec des concentrations en sérotonine variant de 10^{-6} à 1 mg/l : nous n'avons jamais obtenu de dégranulation des cellules de Paneth.

Discussion

Les effets de la réalimentation (cf chapitre IV-A), de la vagotomie (AHONEN 1973, BALAS 1974) de la sympathectomie pharmacologique (AHONEN 1973) et l'action des parasymphicolitiques et parasymphicomimétiques (TRIER et Coll 1967) ont été récemment étudiés au niveau de la cellule de Paneth. Par contre aucun travail ne paraît avoir été réalisé sur l'action éventuelle de certaines hormones digestives. Parmi celles-ci la Pentagastrine, la Sécrétine, l'Histamine ne semblent pas intervenir directement sur les mécanismes d'excrétion et de synthèse granulaire des cellules de Paneth. Seules la CCK-PZ et son homologue la Caeruléine jouent un rôle sur cet élément cellulaire. A un moindre degré la Sérotonine peut intervenir dans le processus sécrétoire.

L'action d'une dose unique de CCK-PZ ou de Caeruléine se traduit par un épisode de dégranulation, 15 à 30 minutes après l'injection, suivi par une accélération de la synthèse zymogénique au cours des 60 minutes suivantes.

Au cours de l'exocytose des grains de zymogène, la surface apicale des cellules de Paneth est augmentée (figure 5a). AMSTERDAM et Coll. ont observé des images ultrastructurales similaires après stimulation de la glande parotide du rat par l'isoprénaline. De telles images paraissent être la conséquence d'une fusion de la membrane des grains de sécrétion avec la membrane apexienne. Atteignant successivement des grains de zymogène situés dans une zone plus basse de l'apex cellulaire, le processus de fusion aboutit à la formation d'une cavité prolongeant la lumière glandulaire au sein du pôle apical de la cellule séreuse(cf chapitre IV-B).

Il est à noter que la diminution du taux de charge granulaire et la dégranulation des cellules de Paneth sont moins importantes que celles observées après réalimentation de l'animal à jeun (cf chapitre IV-A) malgré l'utilisation des doses très importantes d'hormone. Le rôle essentiel joué par la CCK-PZ ou la Caeruléine semble donc être une stimulation de la synthèse granulaire particulièrement nette au niveau de la zone golgienne de la cellule (figure 5b). Toutefois, dans nos conditions d'expérimentation, il est impossible de préciser si ces hormones agissent directement sur la cellule de Paneth. En effet, les phénomènes obtenus sur la cellule de Paneth sont tardifs après l'injection. Une éventuelle action indirecte des enzymes pancréatiques ou de la bile déversées dans la lumière duodénale après stimulation par la CCK-PZ ne peut être formellement éliminée.

Des résultats semblables ont été constatés sur le plan ultrastructural au niveau de la cellule acineuse pancréatique du chien après stimulation par la Pancréozymine (FREXIMOS et Coll 1970). Par ailleurs les constatations morphologiques plaidant en faveur d'une augmentation du processus de synthèse sont à rapprocher de travaux de COUTURE et Coll (1972) qui ont démontré sur des modèles *in vivo* et *in vitro* une augmentation de l'incorporation des acides aminés marqués après stimulation cholinergique du pancréas exocrine de Rat.

La reconstitution du stock granulaire est plus marquée chez la Souris que chez le Hamster, aboutissant même à un taux de charge significativement supérieur à celui des témoins. Malgré le comportement différent des

deux espèces observées il semble donc difficile d'exclure une éventuelle inhibition de l'excrétion associée à la stimulation de la synthèse.

Un problème particulier est posé chez la Souris, 30 minutes après CCK-PZ, par l'augmentation de la charge granulo-basale d'une cellule de type endocrine apparaissant en même temps que la surcharge granulaire des cellules de Paneth. En fonction des réactions histochimiques et des travaux antérieurs de VEILLEUX (1972-1973) et ENERBACK (1970) cette cellule endocrine doit pouvoir être assimilée à un mastocyte intra-épithélial. Il est cependant difficile de dire s'il existe une relation éventuelle fonctionnelle entre les 2 types cellulaires.

Comme l'avaient déjà signalé LAUMONIER et METAYER (1967) la Sérotonine provoque une dégranulation précoce des cellules de Paneth. Toutefois le phénomène excrétoire n'est obtenu qu'avec des doses hormonales dépassant largement les conditions physiologiques. En outre nous n'avons jamais obtenu d'action de la Sérotonine in vitro. La Sérotonine n'aurait donc pas une action directe excrétoire sur la cellule de Paneth. D'ailleurs cette hormone n'agit pas sur la sécrétion enzymatique du pancréas (DRAPANAS et Coll 1961). Des hypothèses expliquant l'action in vivo de la Sérotonine lorsqu'elle est injectée à des doses supra-physiologiques, peuvent cependant être envisagées :

- nous avons observé chez l'animal des phénomènes d'excitabilité motrice et d'agressivité traduisant une action centrale de la Sérotonine. Dans ces conditions l'hormone peut posséder un effet activateur sur les centres vagues.
- un effet vagal peut également être produit localement par accumulation d'acétylcholine ; la sérotonine à forte dose pouvant inhiber la cholinestérase (SOULAIRAC et Coll 1970).
- en outre l'augmentation de la fréquence et de l'amplitude des mouvements péristaltiques sous l'action de la Sérotonine peut favoriser la vidange et l'évacuation de la sécrétion des glandes intestinales.

CONCLUSION

L'ensemble de ces résultats, bien que fragmentaires, paraît démontrer que certaines hormones intestinales et tout particulièrement la Pancréozymine induisent au niveau de la cellule de Paneth des phénomènes sécrétoires analogues à ceux observés antérieurement sur la cellule acineuse pancréatique.

Ceci suggère une parenté histophysiologique éventuelle entre ces 2 types cellulaires bien que le produit de sécrétion de la cellule de Paneth ne soit pas encore formellement identifié.

TABLEAU I		APRES INJECTION HORMONALE						
HAMSTFR		Témoin à jeun	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes	75 minutes	90 minutes
Pentagastrine	3 µg/kg	0, 638 ± 0, 072	0, 611 ± 0, 038	0, 672 ± 0, 042	0, 650 ± 0, 095	0, 628 ± 0, 075		
	6 µg/kg	0, 638 ± 0, 072	0, 597 ± 0, 046	0, 601 ± 0, 082	0, 638 ± 0, 054	0, 721 ± 0, 132		
	12 µg/kg	0, 638 ± 0, 072	0, 666 ± 0, 042	0, 641 ± 0, 101	0, 642 ± 0, 140	0, 600 ± 0, 105		
Sécrétine	2 u/kg	0, 605 ± 0, 058	0,598 ± 0, 033	0, 607 ± 0, 030	0, 610 ± 0, 053	0, 593 ± 0, 044		
	5 u/kg	0, 605 ± 0, 058	0, 602 ± 0, 045	0, 540 ± 0, 078	0, 610 ± 0, 043	0, 642 ± 0, 057		
	10 u/kg	0, 605 ± 0, 058	0, 463 ± 0, 102	0, 468 ± 0, 162	0, 522 ± 0, 138	0, 601 ± 0, 099	0, 608 ± 0, 070	0, 592 ± 0, 088
Histamine	0, 1 mg/kg	0, 645 ± 0, 048	0, 655 ± 0, 042	0, 666 ± 0, 032	0, 607 ± 0, 051	0, 594 ± 0, 039		
	0, 5 mg/kg	0, 645 ± 0, 048	0, 612 ± 0, 055	0, 637 ± 0, 035	0, 628 ± 0, 052	0, 666 ± 0, 046		
	1 mg/kg	0, 645 ± 0, 048	0, 621 ± 0, 099	0, 591 ± 0, 081	0, 651 ± 0, 142	0, 623 ± 0, 121	0, 633 ± 0, 045	0, 654 ± 0, 073
CCK-PZ	1 u/kg	0, 625 ± 0, 061	0, 633 ± 0, 050	0, 620 ± 0, 040	0, 650 ± 0, 042	0, 611 ± 0, 045	0, 595 ± 0, 060	
	2 u/kg	0, 625 ± 0, 061	0, 600 ± 0, 066	0, 518 ± 0, 153	0, 587 ± 0, 073	0, 642 ± 0, 060	0, 609 ± 0, 037	
	3 u/kg	0, 625 ± 0, 061	0, 595 ± 0, 085	0, 535 ± 0, 049	0, 592 ± 0, 066	0, 653 ± 0, 098	0, 622 ± 0, 044	
	5 u/kg	0, 625 ± 0, 061	0, 556 ± 0, 046	0, 435 ± 0, 085	0, 560 ± 0, 128	0, 672 ± 0, 032	0, 697 ± 0, 028	0, 701 ± 0, 040
	10 u/kg	0, 625 ± 0, 061	0, 412 ± 0, 071	0, 333 ± 0, 095	0, 425 ± 0, 112	0, 523 ± 0, 131	0, 685 ± 0, 031	0, 712 ± 0, 042
Caeruleïne	0, 1 µg/kg	0, 612 ± 0, 045	0, 643 ± 0, 032	0, 595 ± 0, 078	0, 641 ± 0, 095	0, 673 ± 0, 112		
	1 µg/kg	0, 612 ± 0, 045	0, 404 ± 0, 029	0, 559 ± 0, 044	0, 610 ± 0, 033	0, 642 ± 0, 049	0, 628 ± 0, 030	0, 650 ± 0, 071
	10 µg/kg	0, 612 ± 0, 045	0, 366 ± 0, 062	0, 308 ± 0, 101	0, 521 ± 0, 098	0, 655 ± 0, 068	0, 732 ± 0, 051	0, 689 ± 0, 033
Sérotonine	5 µg/kg	0, 595 ± 0, 044	0, 600 ± 0, 043	0, 580 ± 0, 037				
	50 µg/kg	0, 595 ± 0, 044	0, 575 ± 0, 056	0, 605 ± 0, 070				
	500 µg/kg	0, 595 ± 0, 044	0, 313 ± 0, 042	0, 458 ± 0, 085	0, 506 ± 0, 072	0, 611 ± 0, 098		

TABLEAU II		APRES INJECTION HORMONALE						
SOURIS		Témoins à jeun	15 minutes	30 minutes	45 minutes	60 minutes	75 minutes	90 minutes
Pentagastrine	3 µg/kg	0, 611 ± 0, 062	0, 634 ± 0, 082	0, 603 ± 0, 093	0, 641 ± 0, 070	0, 620 ± 0, 054	0, 580 ± 0, 073	0, 570 ± 0, 085
	6 µg/kg	0, 611 ± 0, 062	0, 652 ± 0, 055	0, 630 ± 0, 073	0, 664 ± 0, 082	0, 632 ± 0, 055	0, 650 ± 0, 083	0, 642 ± 0, 075
	12 µg/kg	0, 611 ± 0, 062	0, 671 ± 0, 090	0, 642 ± 0, 063	0, 632 ± 0, 084	0, 648 ± 0, 053	0, 650 ± 0, 052	0, 653 ± 0, 074
Sécrétine	2 u/kg	0, 652 ± 0, 043	0, 632 ± 0, 045	0, 601 ± 0, 053	0, 592 ± 0, 064	0, 613 ± 0, 043	0, 615 ± 0, 056	0, 624 ± 0, 052
	5 u/kg	0, 652 ± 0, 043	0, 595 ± 0, 062	0, 622 ± 0, 047	0, 650 ± 0, 033	0, 575 ± 0, 068	0, 633 ± 0, 036	0, 615 ± 0, 065
	10 u/kg	0, 652 ± 0, 043	0, 612 ± 0, 080	0, 656 ± 0, 045	0, 646 ± 0, 057	0, 636 ± 0, 050	0, 628 ± 0, 082	0, 616 ± 0, 069
Histamine	0, 1 mg/kg	0, 614 ± 0, 055	0, 615 ± 0, 062	0, 645 ± 0, 073	0, 654 ± 0, 082	0, 600 ± 0, 062	0, 611 ± 0, 032	0, 618 ± 0, 059
	0, 5 mg/kg	0, 614 ± 0, 055	0, 582 ± 0, 070	0, 602 ± 0, 040	0, 640 ± 0, 035	0, 583 ± 0, 057	0, 594 ± 0, 033	0, 632 ± 0, 076
	1 mg/kg	0, 614 ± 0, 055	0, 512 ± 0, 082	0, 570 ± 0, 070	0, 590 ± 0, 080	0, 582 ± 0, 043	0, 640 ± 0, 057	0, 650 ± 0, 074
CCK-PZ	1 u/kg	0, 655 ± 0, 042	0, 642 ± 0, 095	0, 640 ± 0, 162	0, 588 ± 0, 120	0, 642 ± 0, 086	0, 676 ± 0, 040	0, 644 ± 0, 060
	2 u/kg	0, 655 ± 0, 042	0, 578 ± 0, 062	0, 564 ± 0, 072	0, 672 ± 0, 029	0, 726 ± 0, 060	0, 644 ± 0, 045	0, 628 ± 0, 062
	3 u/kg	0, 655 ± 0, 042	0, 572 ± 0, 067	0, 532 ± 0, 078	0, 664 ± 0, 080	0, 718 ± 0, 054	0, 674 ± 0, 043	0, 640 ± 0, 052
	5 u/kg	0, 655 ± 0, 042	0, 556 ± 0, 059	0, 502 ± 0, 045	0, 582 ± 0, 082	0, 692 ± 0, 056	0, 814 ± 0, 128	0, 718 ± 0, 071
	10 u/kg	0, 655 ± 0, 042	0, 534 ± 0, 058	0, 586 ± 0, 077	0, 724 ± 0, 050	0, 910 ± 0, 031	0, 870 ± 0, 069	0, 822 ± 0, 140
Caeruléine	0, 1 µg/kg	0, 628 ± 0, 053	0, 633 ± 0, 055	0, 600 ± 0, 072	0, 642 ± 0, 062	0, 640 ± 0, 054	0, 598 ± 0, 063	0, 631 ± 0, 073
	1 µg/kg	0, 600 ± 0, 044	0, 553 ± 0, 042	0, 528 ± 0, 041	0, 634 ± 0, 062	0, 610 ± 0, 057	0, 645 ± 0, 033	0, 630 ± 0, 055
	10 µg/kg	0, 624 ± 0, 050	0, 387 ± 0, 140	0, 350 ± 0, 046	0, 494 ± 0, 098	0, 670 ± 0, 011	0, 724 ± 0, 064	0, 663 ± 0, 012
Sérotonine	5 µg/kg	0, 653 ± 0, 071	0, 672 ± 0, 044	0, 611 ± 0, 033	0, 623 ± 0, 047	0, 667 ± 0, 072	0, 596 ± 0, 057	0, 623 ± 0, 032
	50 µg/kg	0, 643 ± 0, 043	0, 656 ± 0, 126	0, 610 ± 0, 098	0, 580 ± 0, 143	0, 570 ± 0, 085	0, 590 ± 0, 045	0, 580 ± 0, 078
	500 µg/kg	0, 682 ± 0, 065	0, 334 ± 0, 033	0, 313 ± 0, 096	0, 435 ± 0, 087	0, 575 ± 0, 062		

TABLEAU I

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez le Hamster après injection de Cholecystokinine-pancréozymine, de Caeruléine ou de Sérotonine. Les intervalles de confiance au risque 0,05 ont été calculés par le test de "t" de Student. Les résultats suivis d'une astérisque (*) sont significativement différents des taux observés chez les animaux témoins au cours de la même expérimentation.

TABLEAU II

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez la Souris après injection de cholecystokinine-pancréozimine, de Caeruléine ou de Sérotonine. Les intervalles de confiance au risque 0,05 ont été calculés par le test de "t" de Student. Les résultats suivis d'une astérisque (*) sont significativement différents des taux observés chez les animaux témoins au cours de la même expérimentation.

- Figure 1 :

Variations du taux de charge des cellules de Paneth après injection de Caeruléine (10 ug/kg), de Sécrétine (10 u/kg), de Pentagastrine (12 µg/kg) et d'Histamine (1 mg/kg), chez le Hamster.

- Figure 2 :

Variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez la Souris après injection de 10 u/kg de CCK-PZ. Les histogrammes expriment le taux de charge des cellules de Paneth à la 30 ème et 60 ème minutes après injection de 1, 2, 3, 4 unités de CCK-PZ.

- Figure 3 :

Variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth après injection de 10 u/kg de CCK-PZ chez le Hamster. Les histogrammes expriment le taux de charge des cellules de Paneth à la 30ème

et 60 ème minute après injection de 1, 2, 3, 5 unités de CCK-PZ.

- Figure 4 :

- a) Aspect histologique d'une glande de Lieberkühn chez le Hamster 15 minutes après injection de 10 u/kg de CCK-PZ. Les cellules de Paneth (P) sont dégranulées. On note la présence du produit de sécrétion dans la lumière glandulaire (*).
- b) Aspect histologique des cellules de Paneth (P) chez le Hamster 30 minutes après injection de 10 u/kg de CCK-PZ. Noter l'amputation des apex cellulaires en regard de la lumière de la glande (L). Cet aspect est retrouvé en microscopie électronique (fig. 5).
Coloration : Méthode de Mallory-Cason. x 500
- c) Aspect histologique des cellules de Paneth chez le Hamster après injection de 10 u/kg de CCK-PZ.
La charge granulaire apexienne est importante. On note la présence de nombreux grains en voie de maturation (flèches) dans la zone supra-nucléaire.
Coloration : méthode de Mallory-Cason. x 250.
- d) Aspect des glandes de Lieberkühn du jéjunum de Souris 60 minutes après injection de 10 u/kg de CCK-PZ.
Noter l'importance de la charge granulaire des cellules de Paneth (P) ainsi que celle des cellules "mastocytaires" (flèches).
Coloration : Trichrome de Gabe. x 250.

- Figure 5 :

- a) Aspect du pôle apical des cellules de Paneth (P) chez le Hamster 30 minutes après injection de CCK-PZ (10 u/kg). Noter les images d'excrétion des grains ainsi que la déformation de l'apex cellulaire (flèches) en regard de la

lumière de la glande de Lieberkühn (L).

Au niveau de la zone golgienne (G) des grains néo-synthétisés sont en voie de maturation.

b) Aspect ultrastructural de la zone golgienne d'une cellule de Paneth 60 minutes après l'injection de 10 u/kg de CCK-PZ. Les dictyosomes golgiens (Go) sont nombreux. Au centre de l'appareil de Golgi de nombreuses vacuoles se remplissent d'un matériel finement granulaire et sont à l'origine de grains immatures (Gi). A la périphérie de la zone golgienne des grains de sécrétion murs (Gr) sont reconnaissables à la forte densité électronique de leur contenu.

- Figure 6 :

Variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth après injection de 500 µg/kg de Sérotonine chez le Hamster et la Souris.

FIGURE 1

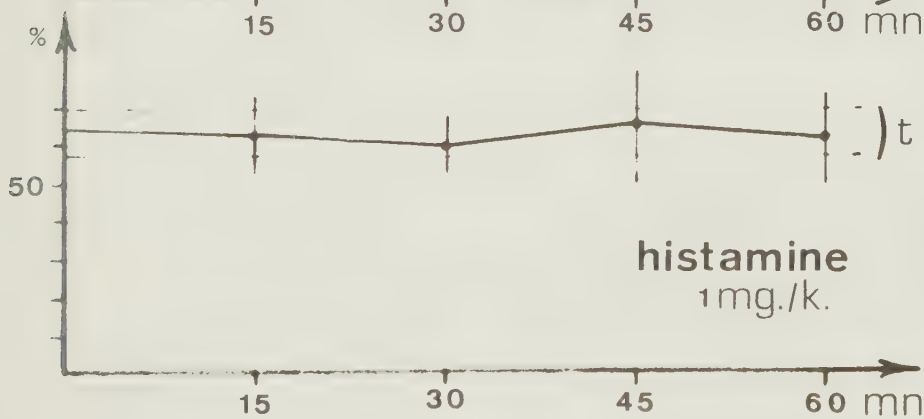
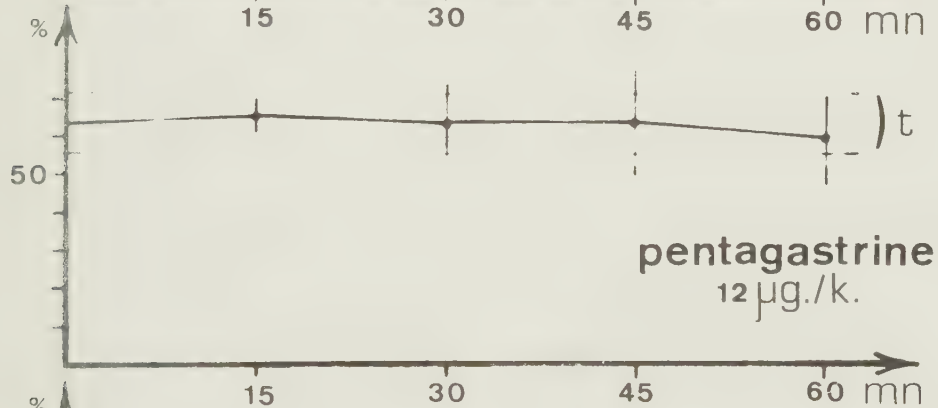
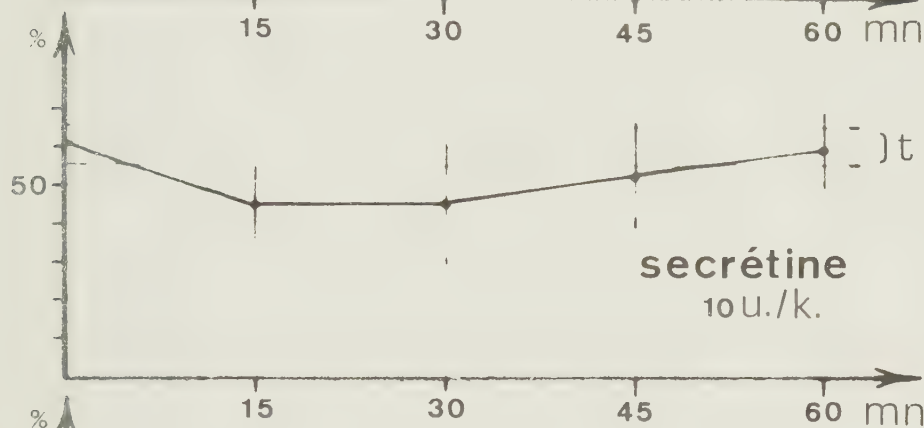
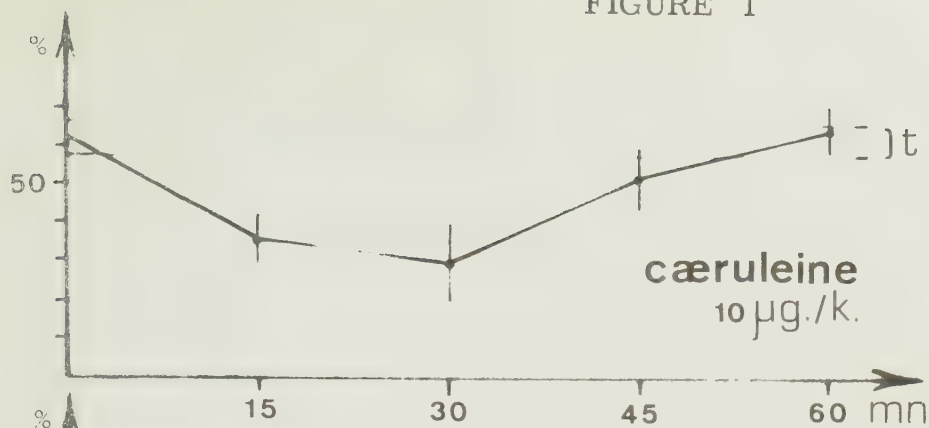


FIGURE 2

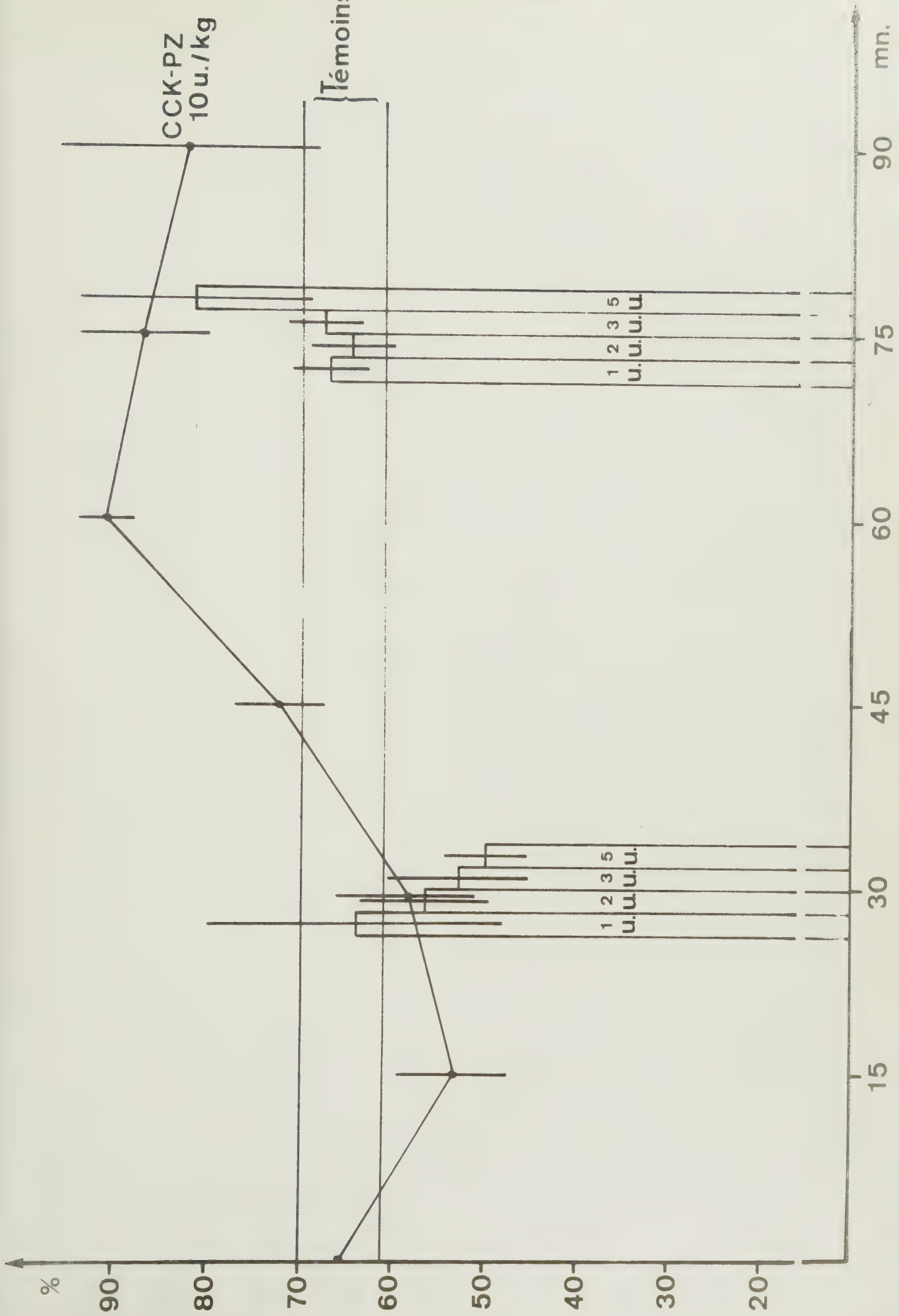


FIGURE 3

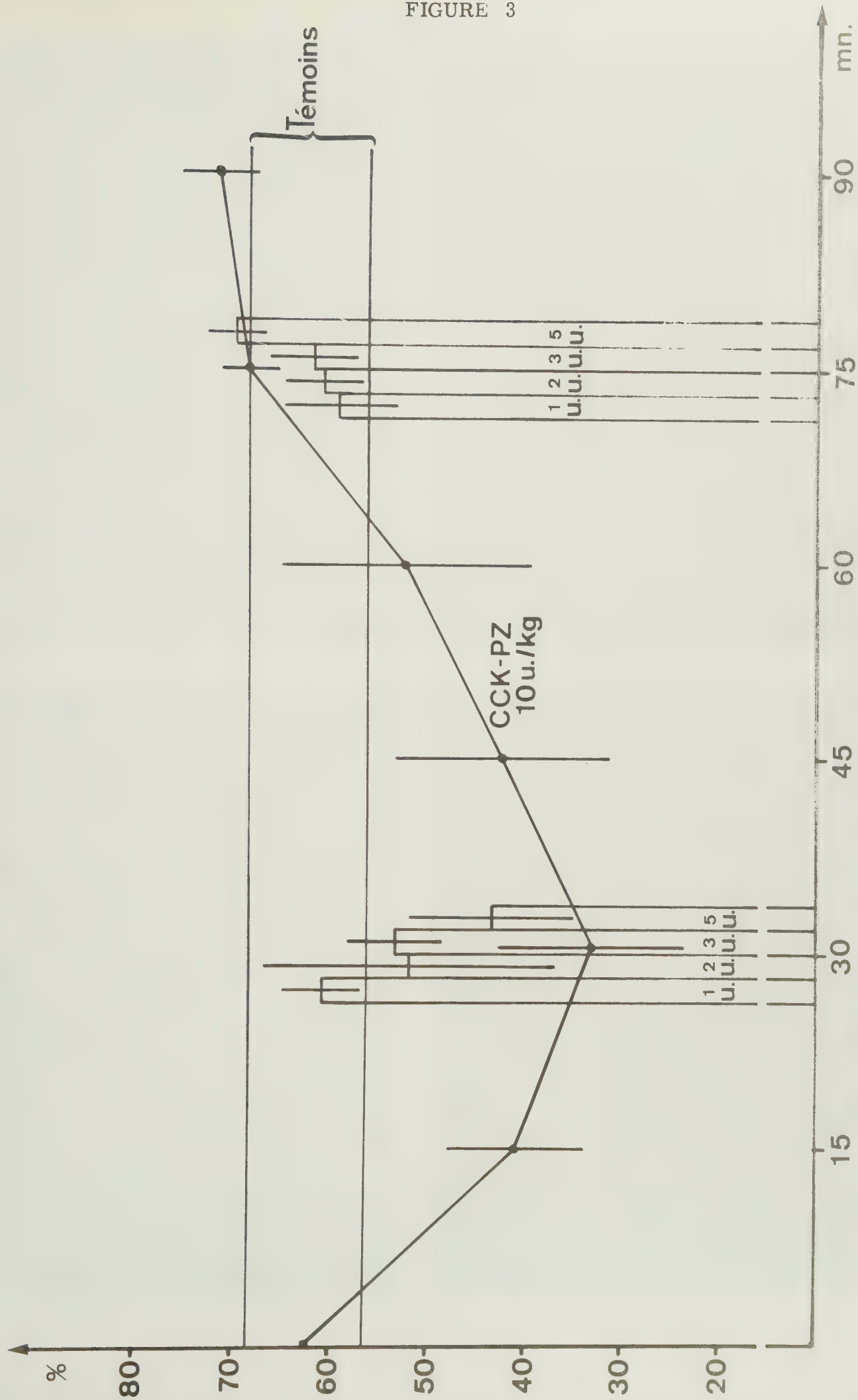


FIGURE 4

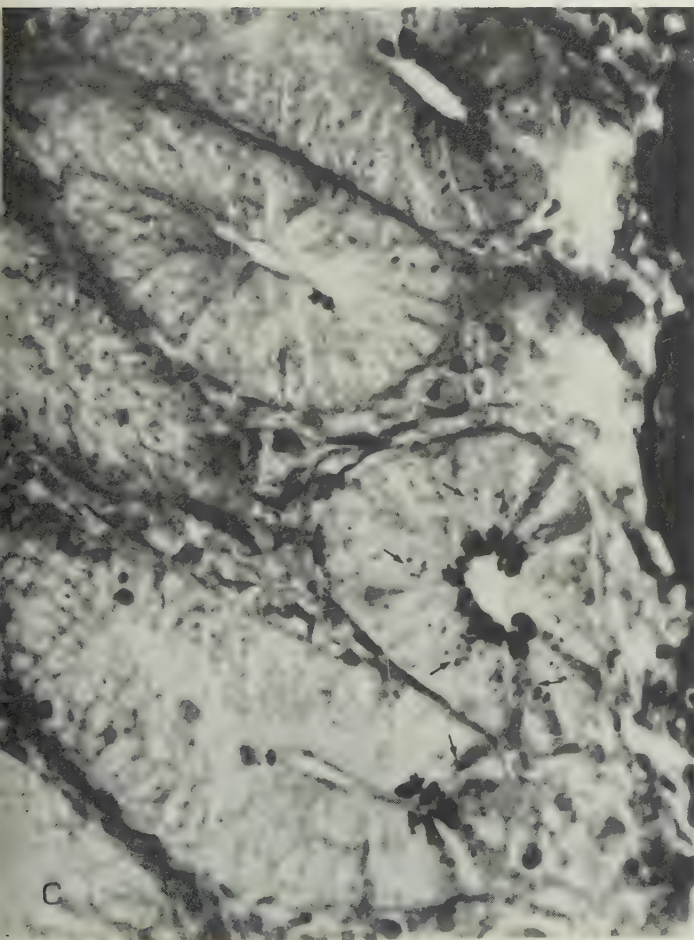
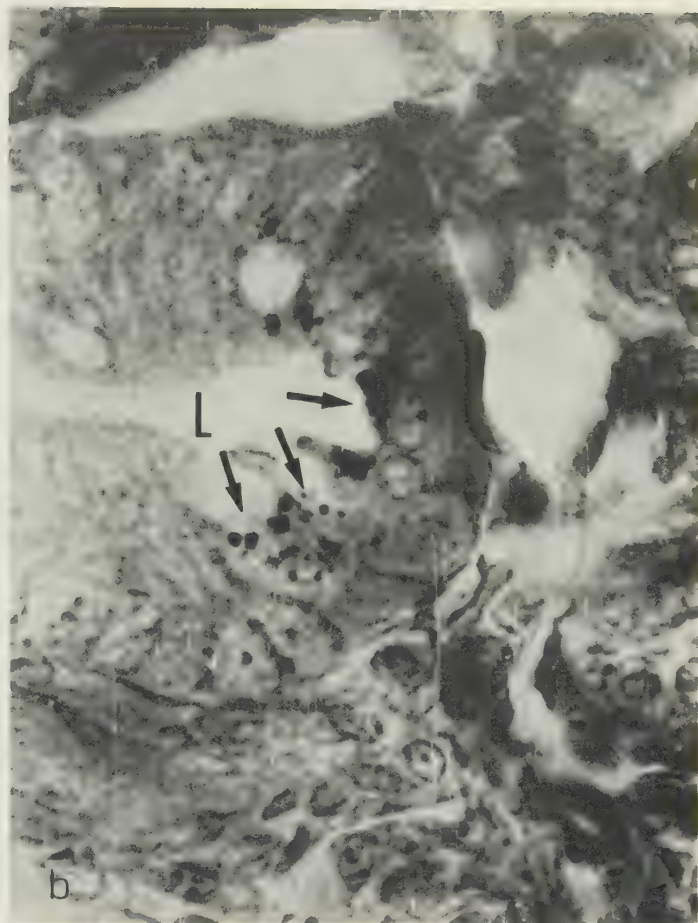


FIGURE 5

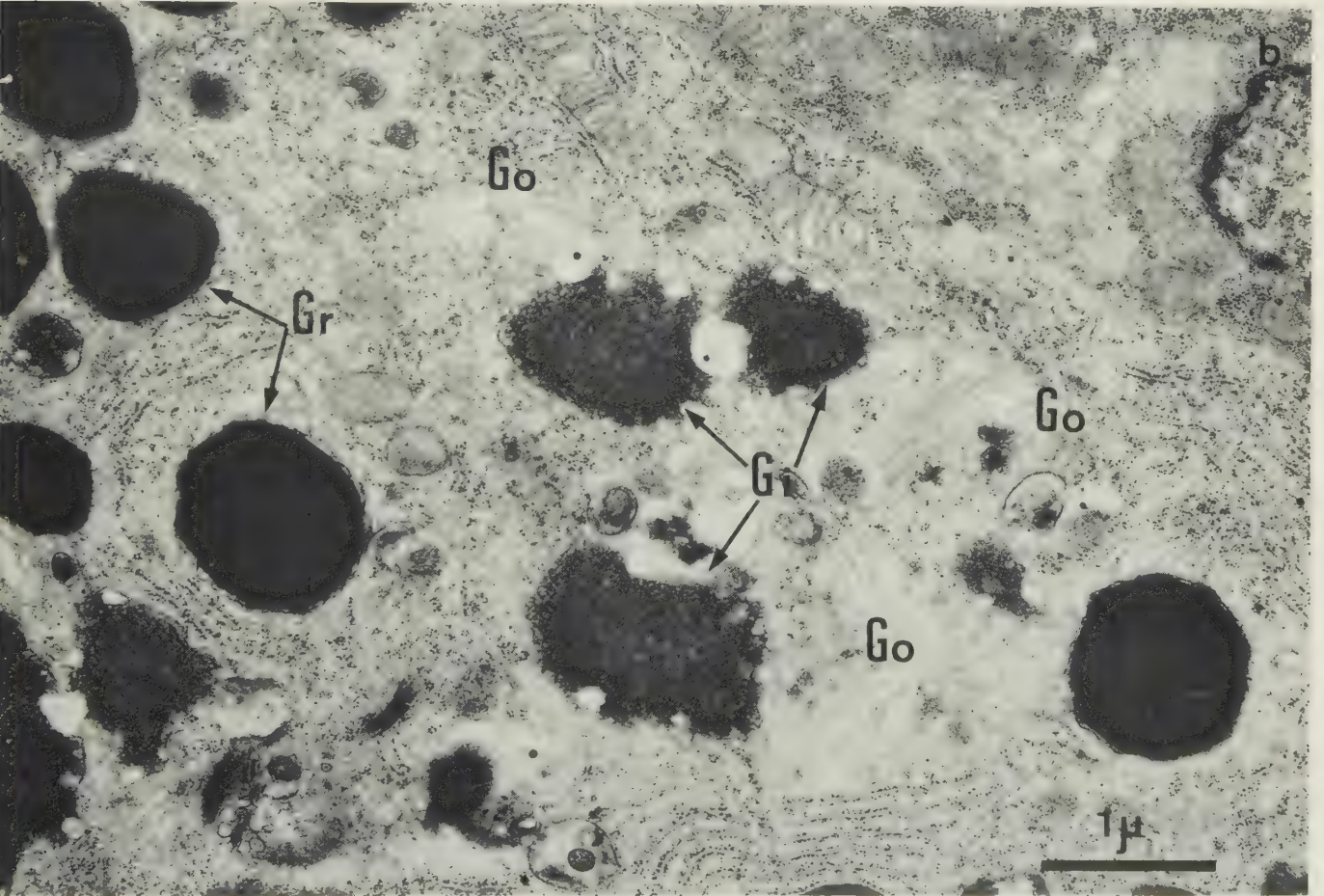
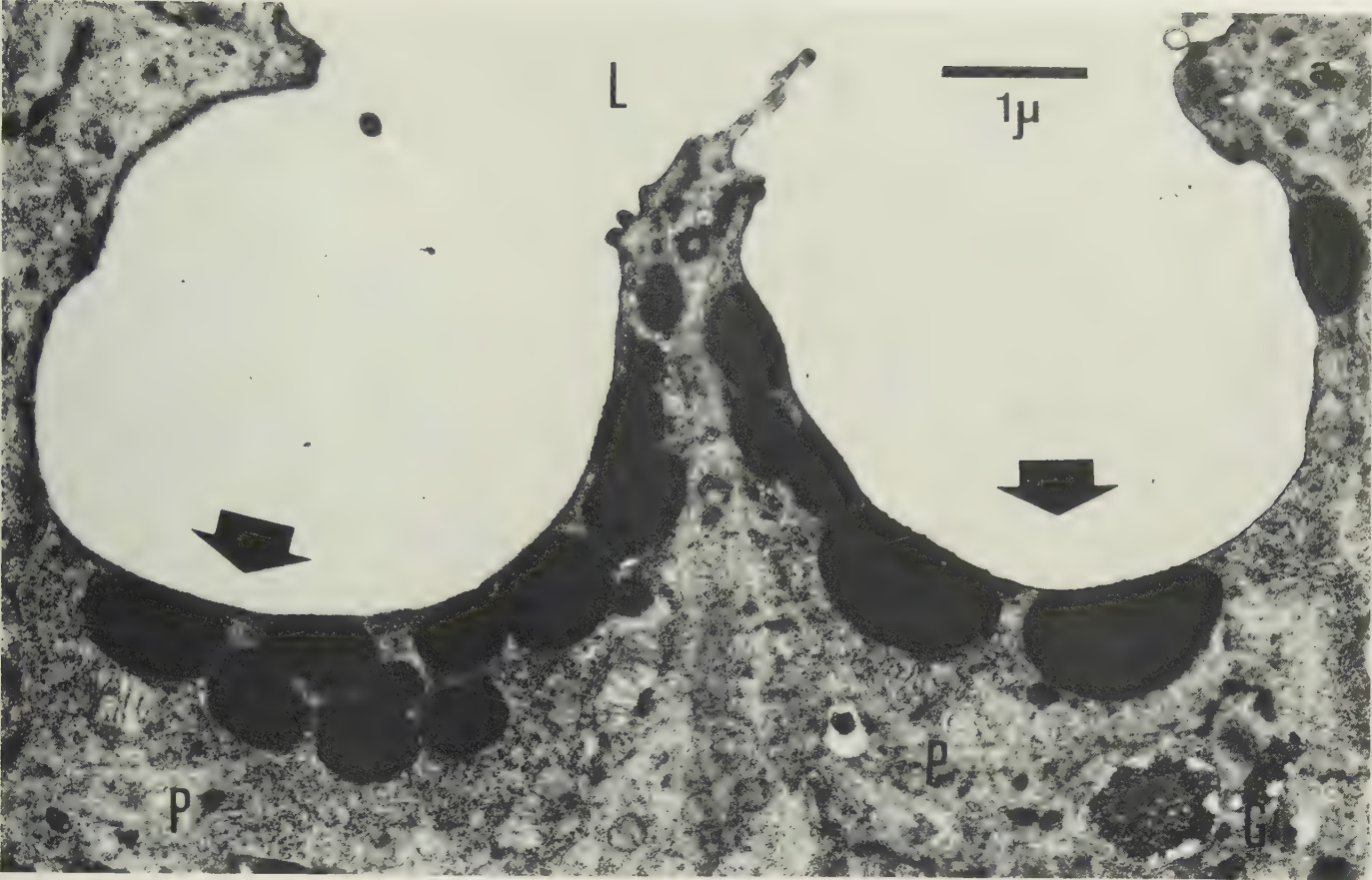
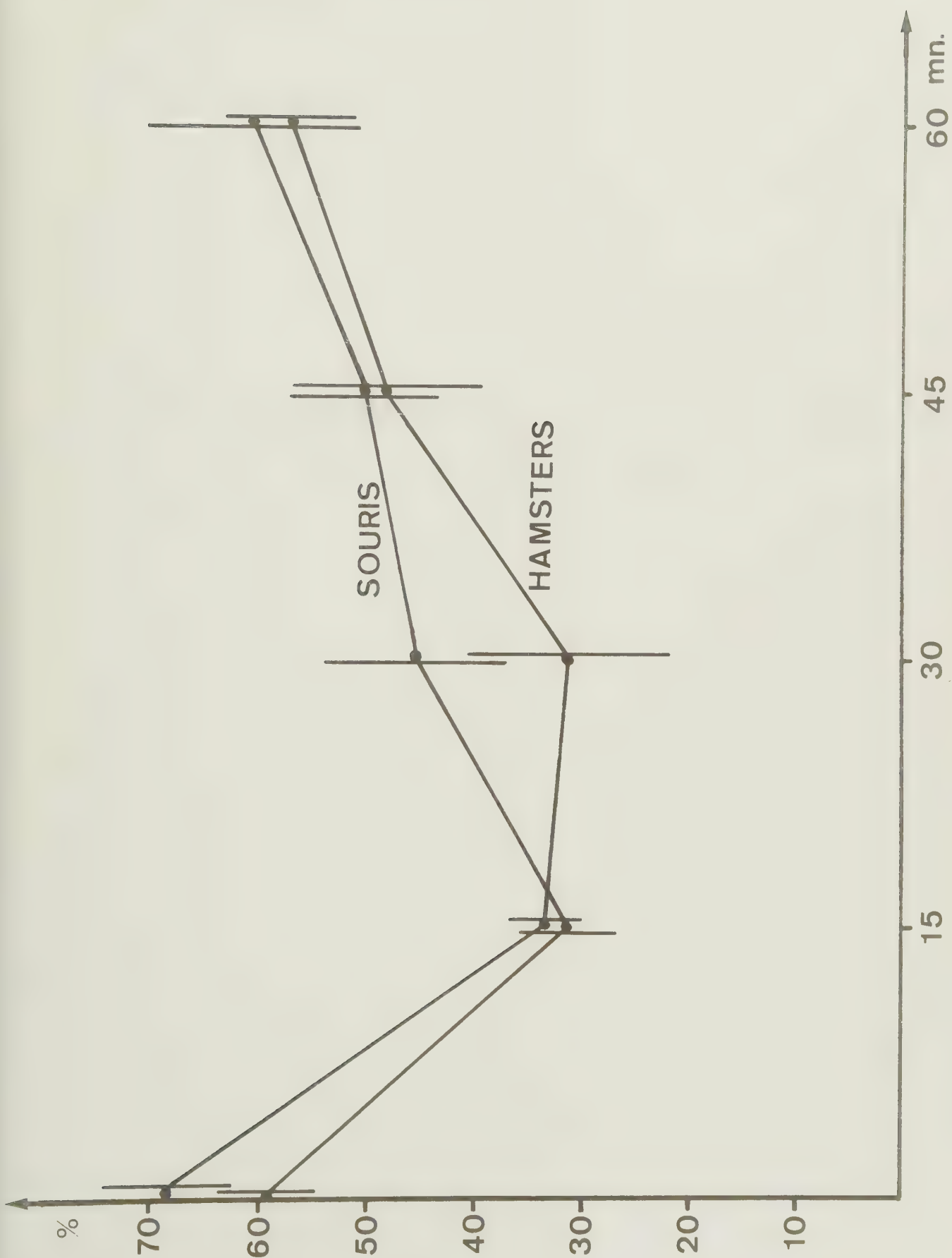




FIGURE 6



CHAPITRE IV-G

INFLUENCE DES SECRETIONS BILIAIRE ET PANCREATIQUE SUR LA CELLULE DE PANETH

INFLUENCE DES SECRETIONS BILIAIRE ET PANCREATIQUE SUR LA CELLULE DE PANETH

Au cours des chapîtres précédents nous avons pu mettre en évidence et faire la preuve que les cellules de Paneth étaient soumises à un mécanisme réflexe de régulation des processus sécrétoires (cf. chapitre IV A, B et C). S'il existe un mécanisme nerveux (Ahonen 1973), un mécanisme hormonal semble également contrôler la sécrétion des cellules de Paneth (cf. chapitre IV E et F). La Pancréozymine et son homologue de synthèse, la caeruleïne, induisent des images d'exocytose zymogénique au cours des 30 minutes consécutives à l'injection hormonale ; nous assistons ensuite à une stimulation de la synthèse cellulaire.

Etant donné le rôle essentiel de la Pancréozymine sur la sécrétion enzymatique du pancréas ainsi que sur l'excrétion de la bile vésiculaire, il nous a paru logique d'envisager d'éventuelles interrelations entre les sécrétions des cellules de Paneth et du bloc hépato-pancréatique.

Dans ce but nous avons étudié :

- a. L'influence de la dérivation totale du bloc hépato-pancréatique.
- b. L'influence de l'exclusion de la sécrétion pancréatique.
- c. L'influence de l'exclusion de la sécrétion biliaire.
- d. L'influence du déversement de la bile et du suc pancréatique dans la lumière de l'intestin grêle.
- e. Le retentissement de l'isolement d'une anse intestinale sur la morphologie de la cellule de Paneth ; l'influence du suc pancréatique ou de la bile instillés dans l'anse isolée.

Protocole expérimental

Cette étude a exclusivement été réalisée sur le Hamster.

Expérimentation I : Exclusion du bloc hépato-pancréatique

Le segment terminal du canal cholédoque a été cathétérisé et abouché à la peau, dérivant ainsi la sécrétion biliaire mais également la sécrétion pancréatique. En effet le canal excréteur principal du pancréas chez le Hamster s'abouche dans le canal cholédoque à 1,5 cm au dessus de la jonction cholédoco-duodénale. Toute sécrétion pancréatique résiduelle a été éliminée en disséquant avec précaution les masses pancréatiques entourant le duodénum ; les canaux accessoires sont ainsi sectionnés. Les animaux ont été sacrifiés 24 et 48 heures après l'intervention.

Expérimentation II : Exclusion de la sécrétion pancréatique

Le canal pancréatique chez le Hamster est de trop petite taille pour être cathétérisé. Nous avons donc réalisé l'exclusion en ligaturant le canal à sa jonction avec le cholédoque. Les canaux accessoires ont été sectionnés. Les animaux ont été sacrifiés 48 heures après l'intervention.

Expérimentation III : Exclusion de la sécrétion biliaire

Le canal cholédoque a été ligaturé en amont de l'abouchement du canal pancréatique. Sur un groupe d'animaux la sécrétion biliaire a été dérivée à la peau par l'intermédiaire d'un cathéter placé dans la vésicule biliaire. Les animaux ont été sacrifiés au bout de 48 heures.

Expérimentation IV : Exclusion de la sécrétion pancréatico-biliaire après écoulement dans les premiers segments du grêle

Pour vérifier le rôle éventuel joué par la sécrétion pancréatico-biliaire entrant en contact avec la muqueuse duodénale (zone où les cellules endocrines sont les plus nombreuses), nous avons dérivé et fistulisé à la peau l'intestin au niveau de la partie médiane du jéjunum (à 15 cm du pylore). Le jéjunum sous-jacent et l'iléon sont alors totalement isolés de la sécrétion pancréatico-biliaire (mais également des sécrétions gastrique et salivaire).

Expérimentation V : Influence du suc pancréatique et de la bile

Sous anesthésie à l'éther, sur des Hamsters à jeun depuis 48 heures, nous avons placé un fin cathéter dans la lumière duodénale par l'intermédiaire du pylore et du pré-estomac. Nous avons alors injecté toutes les 30 minutes, 0,1 ml de bile ou de suc pancréatique. La bile et le suc pancréatique avaient été prélevés, sur d'autres animaux, par cathétérisme du cholédoque et stimulation de la sécrétion par 5 μ /kg de Sécrétine G.I.H. associée à 5 μ /kg de Pancréozymine G.I.H.. Les Hamsters ont été sacrifiés 4 heures après la première injection ; ils avaient au total reçu 1 ml de bile ou de suc pancréatique.

Expérimentation VI : Influence du suc pancréatique ou des sels biliaires sur une anse isolée

Chez les Hamsters anesthésiés, après 48 heures de jeûne, deux anses contigües de 2 cm de longueur ont été réalisées au niveau de la partie basse du jéjunum. Ces anses ont été lavées au sérum physiologique. Une des anses reçoit alors toutes les 30 minutes pendant 4 heures,

- soit 0,1 ml de Taurocholate de Sodium en solution à 5 %.
- soit 0,1 ml de suc pancréatique.

L'anse adjacente reçoit uniquement 0,1 ml de sérum physiologique toutes les 15 minutes et représente ainsi un témoin interne pour chaque animal.

Au cours des expérimentations I, III, IV et V nous avons systématiquement prélevé l'intestin au niveau du 1/3 inférieur du jéjunum. C'est au niveau du 1/3 médian que le prélèvement a été effectué au cours de l'expérimentation II. Dans tous les cas, des animaux ont été sacrifiés immédiatement après le jeûne (groupes témoins).

Lors de l'expérimentation VI nous avons fixé la zone médiane des deux anses.

Chaque groupe expérimental est constitué de 10 animaux. Tous les prélèvements ont été traités en technique histologique courante (cf. chapitre II).

Résultats

Le taux de charge granulaire des cellules de Paneth a été évalué pour chaque expérimentation.

Expérimentation I : Dérivation du bloc hépato-pancréatique

Témoins :	0,626 $\pm$ 0,039
24 heures après dérivation :	0,866 $\pm$ 0,065
48 heures après dérivation :	taux de charge impossible à évaluer.

24 heures après dérivation pancréatico-biliaire l'aspect des cellules de Paneth est considérablement modifié (fig. 1a). La charge granulaire est très importante occupant non seulement l'apex cellulaire mais débordant largement dans les espaces latéro-nucléaires, atteignant même parfois la zone basale de la cellule. Cette surcharge granulaire est nette quel que soit l'éta-ge intestinal considéré (même dans le duodénum, zone où les cellules de Paneth ont normalement chez le Hamster peu de grains apexiens).

En outre nous avons pu noter des modifications de l'architecture villositaire ; les villosités s'atrophient, ont un aspect en massue, sont plus courtes, leur extrémité se nécrose.

48 heures après la dérivation il nous a été impossible d'effectuer une évaluation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth. En effet si chez certains animaux l'aspect est encore similaire à celui observé à la 24ème heure, dans la plupart des cas nous avons pu constater une atrophie totale de la muqueuse intestinale. Les villosités ont disparu ; les glandes de Lieberkühn sont courtes, éparées et dépourvues de cellules de Paneth. L'atro- phie progressive de l'intestin semble plus précoce dans la zone jéjuno-iléale que dans la zone duodénale.

Expérimentation II : Exclusion de la sécrétion pancréatique

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth au 1/3 médian du jéjunum :

Témoins :	$0,321 \pm 0,029$
Expérimentation :	$0,518 \pm 0,027$

Nous avons également été surpris par l'importance de la charge granulaire des cellules de Paneth (fig. 1b). Comme dans l'expérimentation I, les grains de zymogène atteignent les espaces latéro-nucléaires. La turgescence de la cellule est toutefois moins grande. En outre nous n'avons jamais noté d'atrophie villositaire.

Une étude plus détaillée du retentissement de la ligature des canaux pancréatiques sera développée dans le chapitre suivant.

Expérimentation III : exclusion de la sécrétion biliaire

Témoins :	$0,608 \pm 0,071$
24 heures après dérivation :	$0,634 \pm 0,053$
48 heures après dérivation :	atrophie +++

24 heures après dérivation nous n'avons pas noté de variations significatives du taux de charge granulaire des cellules de Paneth. Toutefois comme dans l'expérimentation I, nous avons pu observer une atrophie villositaire partielle. A la 48ème heure l'atrophie est totale (cf. expérimentation I).

Expérimentation IV : Dérivation à la peau du jéjunum

Témoins :	$0,570 \pm 0,038$
Expérimentés.	
- au-dessus de la fistule :	$0,600 \pm 0,028$
- au-dessous de la fistule :	$0,614 \pm 0,015$

Il n'existe pas de différence significative du taux de charge des cellules de Paneth entre les animaux témoins et ceux dont l'intestin grêle a été dérivé. Mais surtout, les taux de charge sont comparables entre le segment

du grêle sus-jacent à la fistule (en contact avec la sécrétion pancréatico-biliaire) et le segment sous-jacent (isolé de la sécrétion pancréatico-biliaire). L'aspect morphologique des cellules de Paneth n'est d'ailleurs pas modifié.

Expérimentation V : Effet du suc pancréatique et de la bile

Témoins :	$0,593 \pm 0,034$
Bile :	$0,308 \pm 0,073$
Suc pancréatique :	$0,410 \pm 0,086$

Le taux de charge granulaire des cellules de Paneth diminue significativement aussi bien après instillation de bile que de suc pancréatique dans la lumière duodénale. Cependant l'aspect morphologique des cellules de Paneth est différent dans les deux cas.

Après instillation de bile, les images d'excrétion zymogénique des cellules de Paneth sont nombreuses (fig. 1d), les pôles apicaux ne possédant que peu de grains sécrétoires ; les images d'effraction, par exocytose, de la membrane apexienne sont fréquentes (cf. chapitre IV B). La sécrétion de la cellule de Paneth est stimulée.

Après instillation du suc pancréatique, les grains de zymogène apexiens sont peu nombreux, souvent moins fuchsinophiles. Il n'existe pas d'image d'excrétion ni d'image de synthèse zymogénique dans l'étage supra-nucléaire golgien. L'aspect morphologique de la cellule de Paneth est fortement évocateur d'une inhibition de la sécrétion cellulaire (fig. 1c).

Expérimentation VI : Action du suc pancréatique et des sels biliaries sur une anse isolée

Anse intestinale témoin :	$0,645 \pm 0,092$
Anse intestinale après injection de suc pancréatique :	$0,685 \pm 0,105$
Anse intestinale témoin :	$0,633 \pm 0,071$
Anse intestinale après injection de sel biliaire :	$0,630 \pm 0,048$

Sur une anse isolée nous ne notons pas de variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth après contact direct du suc pancréatique ou d'un sel biliaire avec la muqueuse intestinale.

Toutefois, après injection de taurocholate de Sodium, nous avons observé une destruction importante des villosités intestinales avec desquamation et nécrose des entérocytes du sommet des villosités, disparition et dislocation du plateau strié, oedème du chorion sous-jacent.

Discussion

Les expérimentations I, II, III et V montrent qu'il existe des inter-relations fonctionnelles entre la sécrétion pancréatico-biliaire et celle des cellules de Paneth.

C'est en fait la sécrétion pancréatique qui semble jouer le rôle le plus important. En effet l'exclusion de la sécrétion pancréatique provoque une augmentation du taux de charge granulaire (expérimentation I et II). Un excès de suc pancréatique dans la lumière duodénale provoquerait au contraire l'inhibition de la sécrétion (expérimentation V).

Le rôle éventuel de la bile semble moins important. L'exclusion de la sécrétion biliaire ne modifie pas la morphologie de la cellule de Paneth (expérimentation III). Toutefois un excès de bile dans la lumière duodénale provoque des phénomènes excrétoires.

Par contre la sécrétion biliaire semble jouer un rôle essentiel sur la trophicité de la muqueuse intestinale (expérimentation I, III, VI) ; les modifications morphologiques des villosités ainsi que du plateau strié des entérocytes mériteraient une étude plus approfondie en tenant compte, en particulier, des travaux de FRY et STAFFELDT (1964), SHINER (1969), LOW-BEER et Coll. (1970), GRACEY et Coll. (1973) Il semble d'ailleurs difficile de différencier, dans un tel processus dégénératif, la part qui revient réellement à l'exclusion de la sécrétion de bile de celle revenant au déséquilibre hydro-électrolytique au cours de l'expérimentation I ou III. En effet, après simple ligature du canal cholédoque immédiatement au-dessous de l'abouchement du canal cystique (donc sans écoulement à l'extérieur et sans déperdition du flux biliaire), les phénomènes d'atrophie villositaire semblent moins accentués.

Le suc pancréatique ou un sel biliaire mis au contact direct de la muqueuse intestinale dans une anse isolée n'entraînent pas de modifications sécrétoires des cellules de Paneth (expérimentation VI). Au contraire l'écoulement de suc pancréatique ou de bile dans le duodénum retentit sur la sécrétion de cet élément cellulaire (expérimentation V). En outre l'aspect morphologique et le taux de charge granulaire des cellules de Paneth ne varient pas dans la zone inférieure du jéjunum si la sécrétion pancréatico-biliaire s'écoule normalement dans le duodénum et les premières anses du jéjunum (expérimentation IV). Les mécanismes d'action de la bile ou du suc pancréatique sont donc probablement indirects.

Ainsi,

- Il semble bien qu'existent des interrelations complexes entre la sécrétion des cellules de Paneth et d'autres sécrétions digestives ; en particulier biliaire et pancréatique.

- Le suc pancréatique pourrait représenter un facteur d'inhibition de la sécrétion des cellules de Paneth.

- La bile, déversée dans la lumière intestinale, semble favoriser l'excrétion zymogénique des cellules de Paneth. Peut-être pourrait-on admettre que la sécrétion de bile potentialise une stimulation de type cholinergique. En effet la bile provoque une accélération du péristaltisme intestinal par accroissement du tonus cholinergique.

- Le mécanisme d'inter-régulation semble indirect et dépendre du contact des sécrétions pancréatico-biliaires avec la muqueuse duodénale. Or, c'est au niveau du duodénum que le pourcentage en cellules endocrines de l'intestin grêle est à son maximum. Nous pouvons donc nous demander si ce type cellulaire ne jouerait pas un rôle par mécanisme relai.

Il nous paraît cependant difficile de conclure car cette étude est encore trop fragmentaire. L'observation détaillée, de l'aspect ultrastructural au cours des différentes expérimentations s'avère nécessaire. Les mécanismes d'action ne pourront être cernés avec précision qu'en effectuant des expériences complémentaires et en particulier en réalisant des études cinétiques.

Une notion semble toutefois acquise ; la sécrétion des cellules de Paneth devra ultérieurement être envisagée non seulement isolément mais égale-

ment en confrontation avec les autres sécrétions de l'appareil digestif dans le cadre de plus vastes processus de régulation de la digestion. Des travaux expérimentaux comparatifs entre l'intestin grêle in vivo et l'intestin isolé-perfusé devraient être riches d'enseignement.

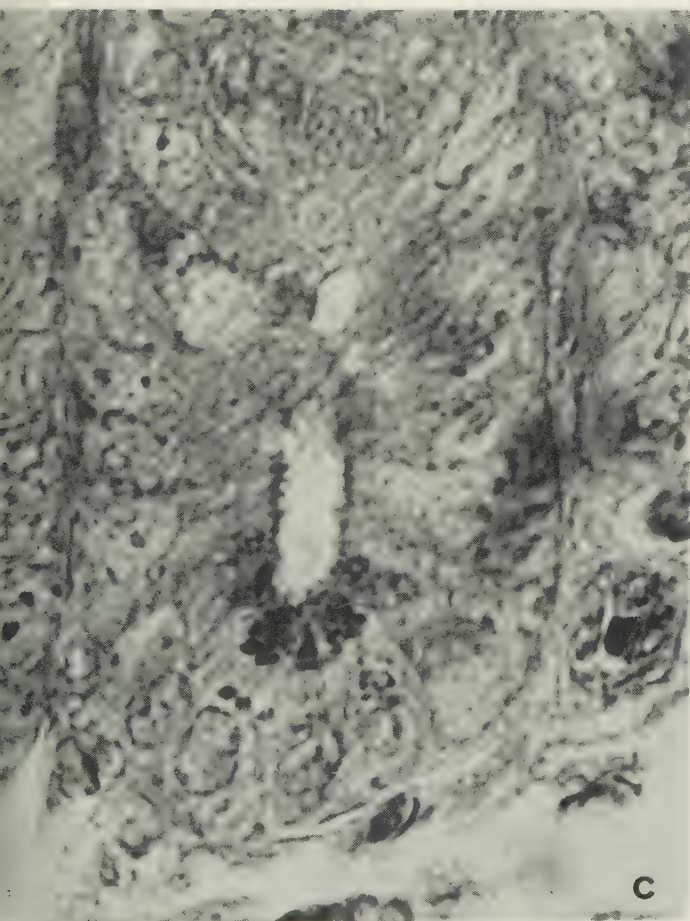
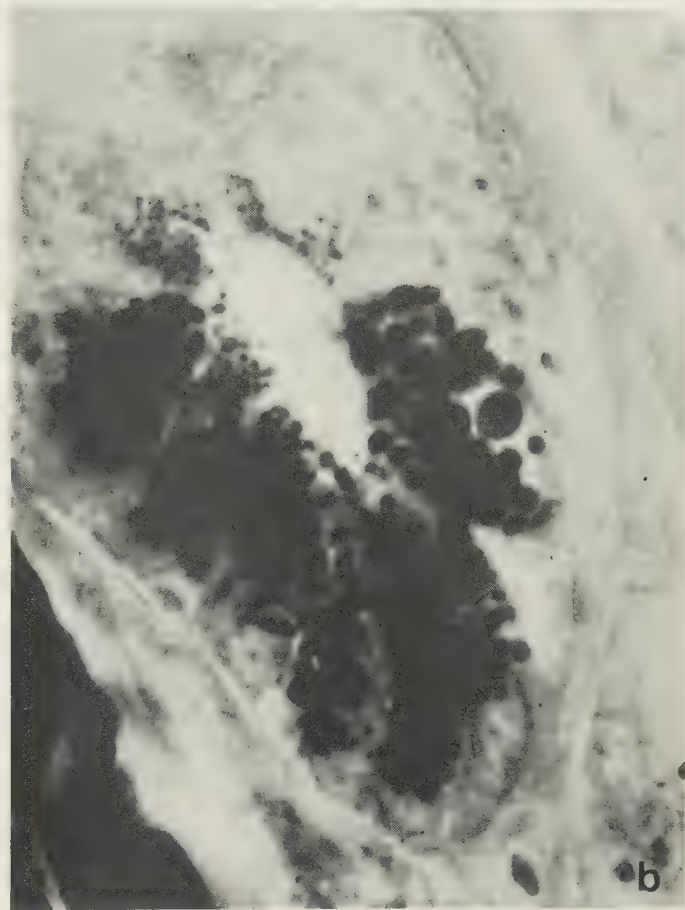
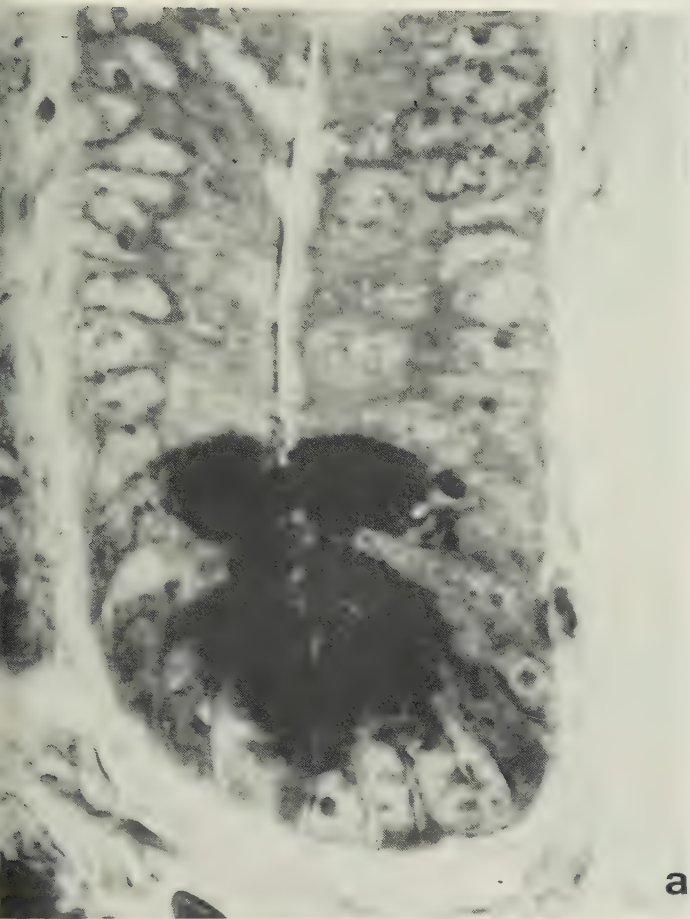
Figure 1 :

Aspect morphologique des cellules de Paneth.

- a. Après dérivation pancréatico-biliaire
- b. 48 heures après ligature des canaux pancréatiques
- c. Après instillation de suc pancréatique dans la lumière duodénale
- d. Après instillation de bile dans la lumière duodénale.

Coloration de Mallory-Cason x 500.

FIGURE 1



CHAPITRE IV-H

EFFETS DE LA LIGATURE DES CANAUX PANCREATIQUES SUR LES
CELLULES DE PANETH DU JEJUNUM DE HAMSTER

EFFETS DE LA LIGATURE DES CANAUX PANCREATIQUES SUR LES CELLULES DE PANETH DU JEJUNUM DE HAMSTER

Nous avons pu constater (chapitre précédent) qu'il existait probablement des inter-relations complexes entre la sécrétion de la cellule de Paneth et les sécrétions digestives sus-jacentes, en particulier la sécrétion pancréatique.

En effet, la ligature des canaux excréteurs du pancréas entraîne, au deuxième jour, une augmentation significative du taux de charge granulaire des cellules de Paneth.

Protocole expérimental

L'étude a été réalisée sur le Hamster. En effet il est impossible, chez le Rat, de ligaturer les canaux pancréatiques sans exclure la sécrétion biliaire. Chez la Souris le pancréas est trop diffus. Chez le Cobaye il est difficile d'être certain d'avoir ligaturé la totalité des canaux accessoires se déversant dans le duodénum.

La ligature pancréatique a été réalisée sous anesthésie. Le canal pancréatique principal (qui débouche dans le cholédoque à un cm environ au dessus du duodénum) a été ligaturé à son extrémité. Les canaux pancréatiques accessoires ont été sectionnés en désinsérant, par dissection, le pancréas de la paroi externe duodénale.

Nous avons étudié le retentissement de la ligature pancréatique sur l'évolution de la courbe pondérale entre un groupe d'animaux ou la liga-

ture était effective et un groupe opéré "à blanc", la ligature sur le canal pancréatique principal n'ayant pas été nouée (fig. 1). Nous avons ainsi pu constater que les animaux opérés "à blanc" retrouvaient leur poids initial vers le douzième jour après l'intervention. Chez les animaux ligaturés la chute pondérale est beaucoup plus importante dans les premiers jours. Par contre, dès le 4ème, 5ème jour la croissance pondérale est à nouveau identique à celle observée chez les animaux témoins.

Par groupe de 10, les animaux ont été sacrifiés au premier, cinquième, dixième, quinzième et trentième jours après la ligature. Nous avons prélevé l'intestin au niveau du tiers supérieur, médian, et inférieur du jéjunum. Nous avons également prélevé le duodénum et le pancréas.

Résultats

Outre l'observation optique et ultrastructurale nous avons réalisé différents types d'évaluation de la charge zymogénique des cellules de Paneth.

1) Le taux global de charge granulaire, tel que nous l'avons évalué dans toutes les expérimentations précédentes.

2) Le nombre moyen de cellules de Paneth par fond de glande.

3) Le nombre moyen de grains de zymogène apexiens sur des coupes longitudinales et axiales de cellules de Paneth (sur photographies en microscopie électronique).

1) Taux de charge granulaire :

	1/3 sup. jéjunum	1/3 médian jéjunum	1/3 inf. jéjunum
Témoin	0,101 ± 0,045	0,300 ± 0,023	0,593 ± 0,034
1 ^{er} jour	0,262 ± 0,093*	0,454 ± 0,062*	0,612 ± 0,043
5ème jour	0,355 ± 0,045*	0,540 ± 0,012*	0,627 ± 0,038
10ème jour	0,328 ± 0,056*	0,612 ± 0,054*	0,695 ± 0,077*
15ème jour	0,430 ± 0,044*	0,669 ± 0,033*	0,721 ± 0,081*
30ème jour	0,203 ± 0,087	0,282 ± 0,041	0,631 ± 0,054

* significativement différent des témoins:

2) Nombre moyen de cellules de Paneth par fond de glandes :

	1/3 sup. jéjunum	1/3 médian jéjunum	1/3 inf. jéjunum
Témoin	3,12 $\pm$ 0,40	5,5 $\pm$ 0,45	5,90 $\pm$ 0,70
1er jour	3,33 $\pm$ 0,55	4,87 $\pm$ 0,51	5,21 $\pm$ 0,53
5ème jour	2,82 $\pm$ 0,45	5,01 $\pm$ 0,91	6,25 $\pm$ 0,71
10ème jour	2,91 $\pm$ 0,39	5,56 $\pm$ 0,21	6,35 $\pm$ 0,65
15ème jour	4,33 $\pm$ 0,91 *	6,85 $\pm$ 0,49 *	7,62 $\pm$ 0,90 *
30ème jour	4,26 $\pm$ 0,85 *	7,09 $\pm$ 1,02 *	6,33 $\pm$ 0,66

3) Nombre moyen de grains de zymogène apexien :

Au niveau du tiers médian du jéjunum :

Témoins : 13,7 grains $\pm$ 3,2
1er jour : 21,5 " $\pm$ 2,4 *
5ème jour : 24,1 " $\pm$ 3,6 *
10ème jour : 22,1 " $\pm$ 2,7 *
15ème jour : 22,9 " $\pm$ 8,3
30ème jour : 12,6 " $\pm$ 4,6

* significativement différent des témoins.

Les principaux résultats ont été transcrits sur des graphiques (fig. 2, 3 et 4).

Comme nous avons déjà pu l'observer dans le chapitre précédent, la ligature des canaux pancréatiques provoque une hypertrophie des cellules de Paneth.

Très rapidement après la ligature, le taux de charge granulaire augmente. Cette augmentation n'est significative, du 1er au 10ème jour, que dans la zone haute et médiane du jéjunum.

L'élévation maximale du taux de charge se situe, dans notre expérimentation, au 15ème jour. En effet, au 30ème jour le taux de charge des cellules de Paneth s'est à nouveau abaissé ; il n'est pas significativement différent des taux observés chez les animaux témoins.

A partir du 10ème jour, le nombre de cellules de Paneth augmente au niveau de chaque fond de glande. Il s'agit d'un phénomène plus tardif qui

persiste au 30ème jour dans les zones haute et médiane du jéjunum.

Le nombre moyen de grains apicaux augmente également au niveau de chaque cellule de Paneth. Cette augmentation de la charge apexienne est significative du 1er au 10ème jour.

Il s'agit d'une hypertrophie associée à une hyperplasie des cellules de Paneth (voir fig. 1b chapitre IV-G). Le phénomène est précoce et atteint son maximum dans la deuxième semaine qui suit la ligature. Par la suite, progressivement l'apex des cellules de Paneth redevient normal. La régression de l'hypertrophie des cellules de Paneth est concomitante de signes de régénération du pancréas. En effet, au 30ème jour, à côté du pancréas ligaturé (fig. 5a) présentant tous les signes de cyto-stéatonecrose, il existe au contact de la paroi duodénale des bourgeons pancréatiques morphologiquement sains. Nous pensons que la régénération pancréatique a pour origine la prolifération dans la paroi duodénale des reliquats de résection des canaux pancréatiques accessoires. En effet nous avons pu visualiser entre le 10ème et le 15ème jour après ligature, la présence d'une prolifération acineuse autour de canaux pancréatiques situés dans le chorion de la muqueuse duodénale (fig. 5b). Ces observations sont en accord avec les travaux de TISCORNIA et DREILING (1966) qui ont pu montrer la possibilité d'une régénération du tissu glandulaire pancréatique à partir de cellules pseudo acineuse canalaire.

La microscopie électronique confirme les données de la microscopie optique (fig. 6). L'hypertrophie des cellules de Paneth, après ligature des canaux pancréatiques, semble être la conséquence d'une stimulation globale de la sécrétion de cet élément cellulaire.

- les images d'excrétion mérocrine sont nombreuses
- la synthèse sécrétoire de la cellule est stimulée de façon permanente : la zone golgienne est hypertrophiée, de nombreux grains de zymogène néosynthétisés viennent s'accumuler dans l'apex cellulaire.

Discussion

Nous pensons qu'il existe un "balancement" entre la sécrétion des cellules de Paneth et la sécrétion endocrine pancréatique. Toutefois le mécanisme d'inter-régulation reste à élucider. Trois hypothèses nous semblent possibles pour expliquer l'hypertrophie consécutive à la ligature des canaux pancréatiques :

- 1 - Un facteur humoral stimulant la sécrétion des cellules de Paneth serait libéré par la cytonécrose du parenchyme pancréatique.

2 - Le suc pancréatique, déversé dans la lumière intestinale, pourrait représenter un facteur d'inhibition permanente de la sécrétion des cellules de Paneth.

3 - Il existe un mécanisme de régulation neuro-endocrinienne commun à la sécrétion pancréatique et à celle des cellules de Paneth.

Nous éliminons la première hypothèse car nous avons pu obtenir l'hypertrophie des cellules de Paneth après pancréatectomie (une petite zone de pancréas à proximité de la rate avait été conservée pour maintenir la fonction endocrine).

La deuxième hypothèse semble vérifiée puisque l'instillation de suc pancréatique dans le duodénum provoque une diminution du taux de charge granulaire des cellules de Paneth (cf chapitre 4 G).

Nous ne possédons pas d'élément permettant d'argumenter la troisième hypothèse. Toutefois nous avons pu montrer le rôle joué par la Pan-créozy mine sur la stimulation de la sécrétion des cellules de Paneth. Le suc pancréatique pourrait éventuellement représenter un facteur d'inhibition de la sécrétion de Cholecystokinine-pancréozy mine par une cellule endocrine du duodénum ? (éventuel mécanisme d'autorégulation). Le dosage radio-immunologique du taux sérique de la C.C.K.-PZ devrait dans ce cas apporter de nombreux renseignements.

- Figure 1 :

Evolution de la courbe pondérale chez le Hamster après ligature des canaux pancréatiques.

A) Animaux opérés "à blanc"

B) Animaux après ligature effective

- Figure 2 :

Variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth après ligature des canaux pancréatiques

- Figure 3 :

Variation du nombre de cellules de Paneth par fond de glande de Lieberkühn après ligature des canaux pancréatiques

- Figure 4 :

Variation du nombre de grains de zymogène apexiens après ligature des canaux pancréatiques

- Figure 5 :

a) Aspect morphologique du pancréas de Hamster 10 jours après ligature des canaux excréteurs. Noter la dégénérescence et la raréfaction des acini glandulaires (AP), la conservation des canaux de second ordre (c), l'importance du tissu conjonctif avec début de fibrose (f) et la présence de nombreux îlots adipeux (ad).

Coloration : Mallory-Cason. x 125.

b) Ilots pancréatiques hétéro-typiques situés dans la sous-muqueuse du duodénum (15 jours après ligature)

L'îlot (IP) est formé par des acini adjacents, bordant un canal excréteur (c). L'aspect est celui d'un pancréas fonctionnel. G : glandes de Lieberkühn

Coloration de Mallory-Cason. x 125.

- Figure 6 :

Aspect ultra-structural des cellules de Paneth 48 heures après ligature des canaux pancréatiques.

Les grains apexiens sont déjà en nombre plus important que chez des animaux témoins. Noter la présence d'images évoquant l'excrétion permanente, mérocrine des cellules (flèches). Corrélativement, il existe une hypertrophie de l'appareil de Golgi (Go) au centre duquel de nombreux grains de zymogène sont en voie de maturation.

FIGURE 1

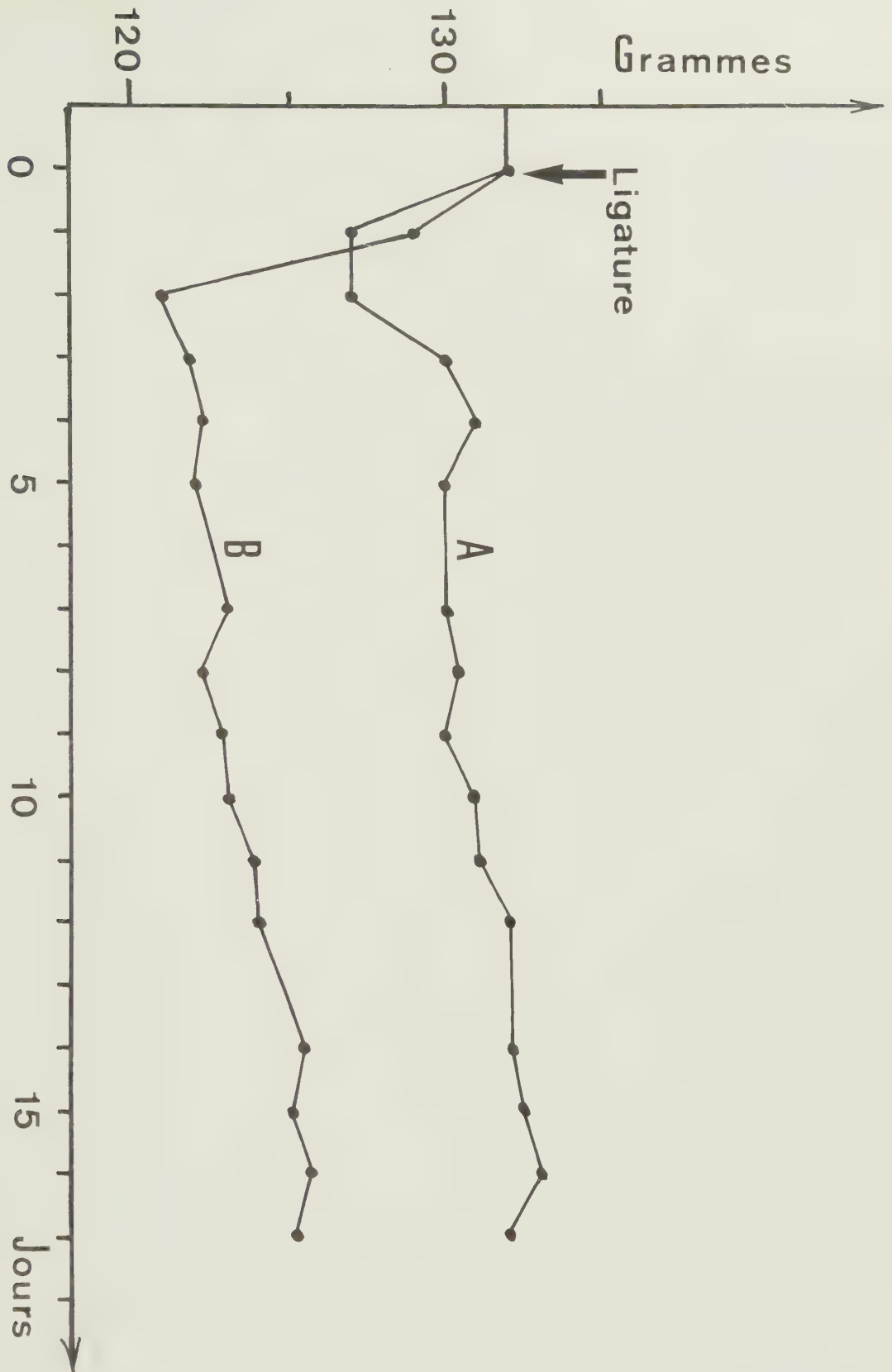


FIGURE 2

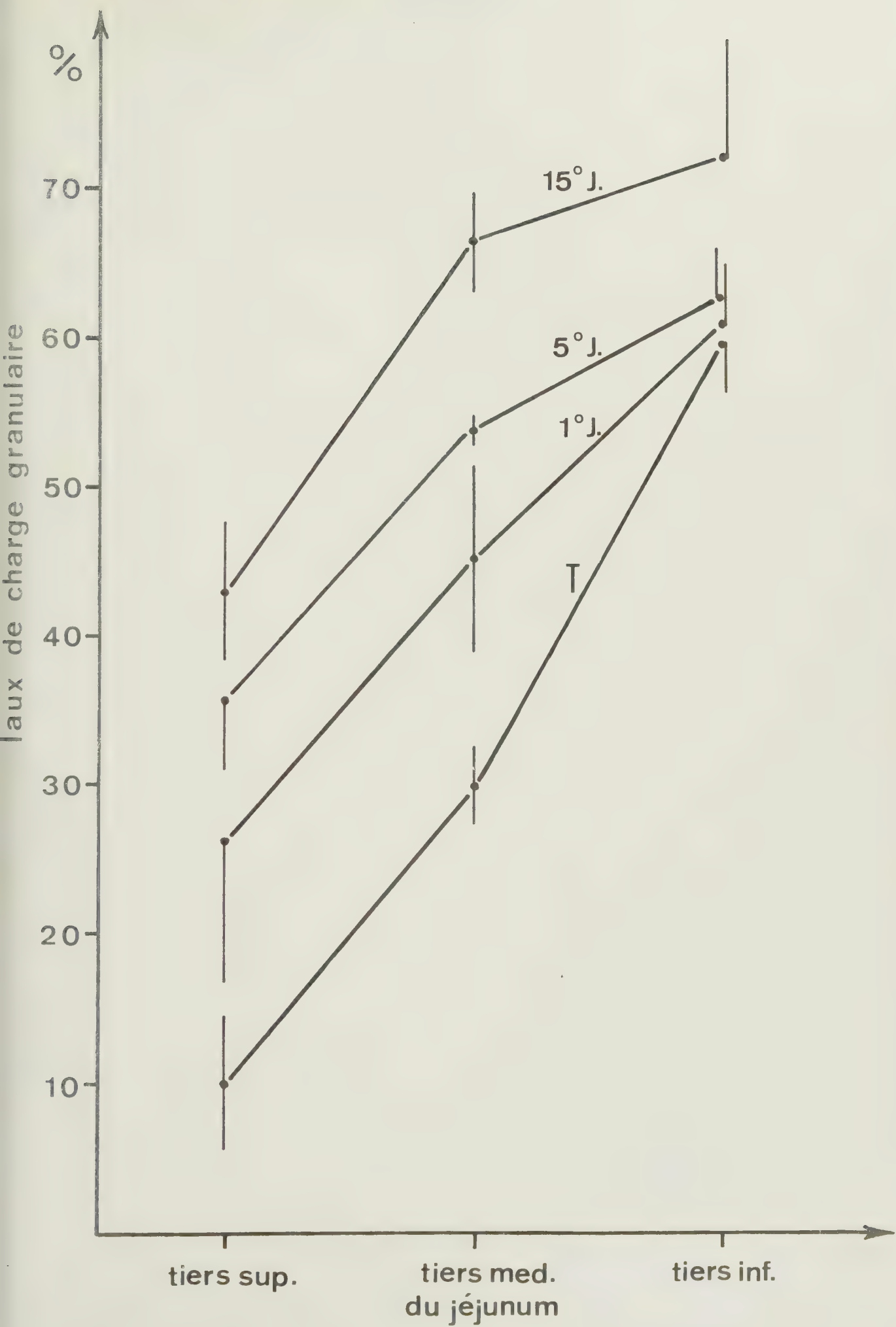


FIGURE 3

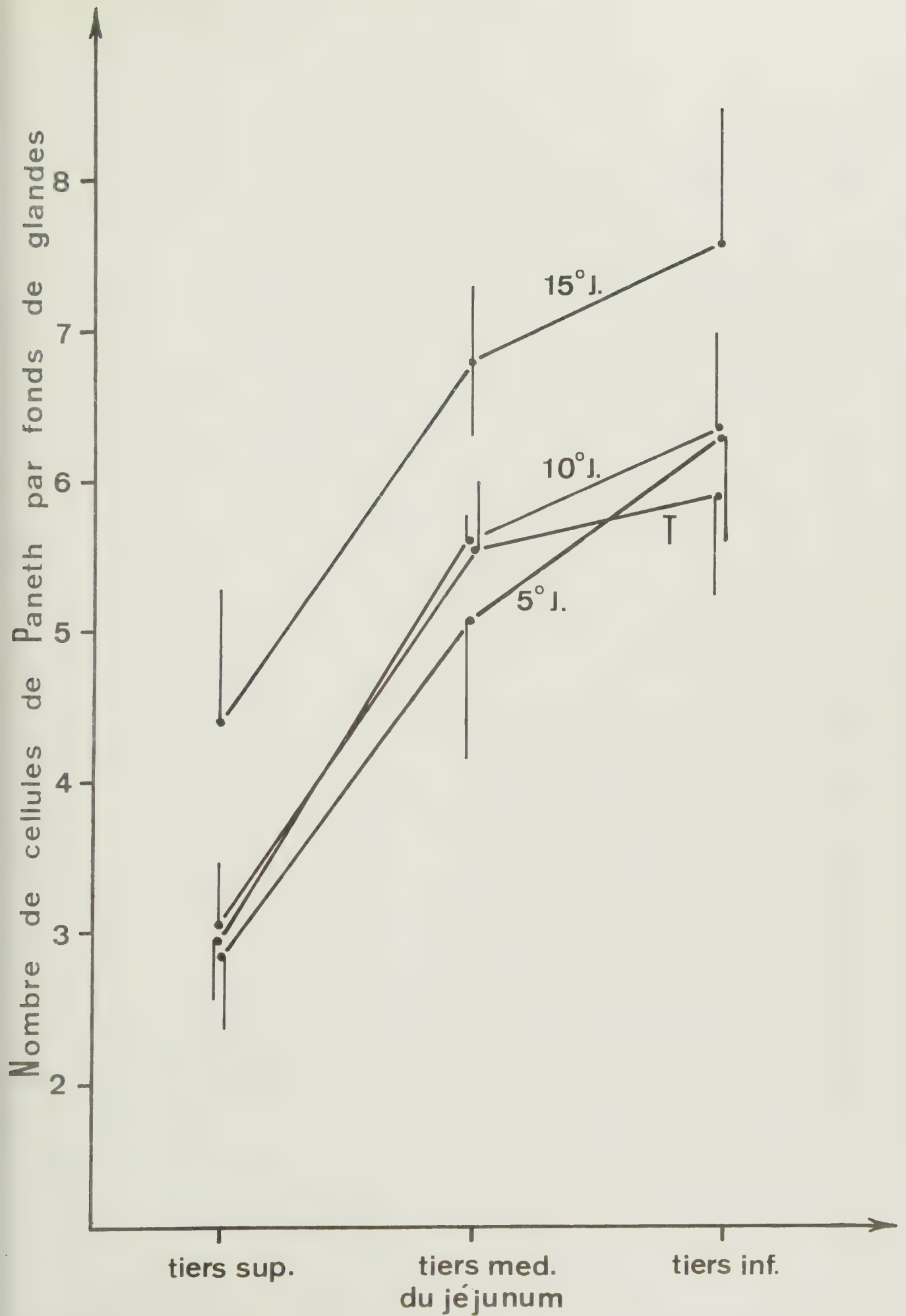


FIGURE 4

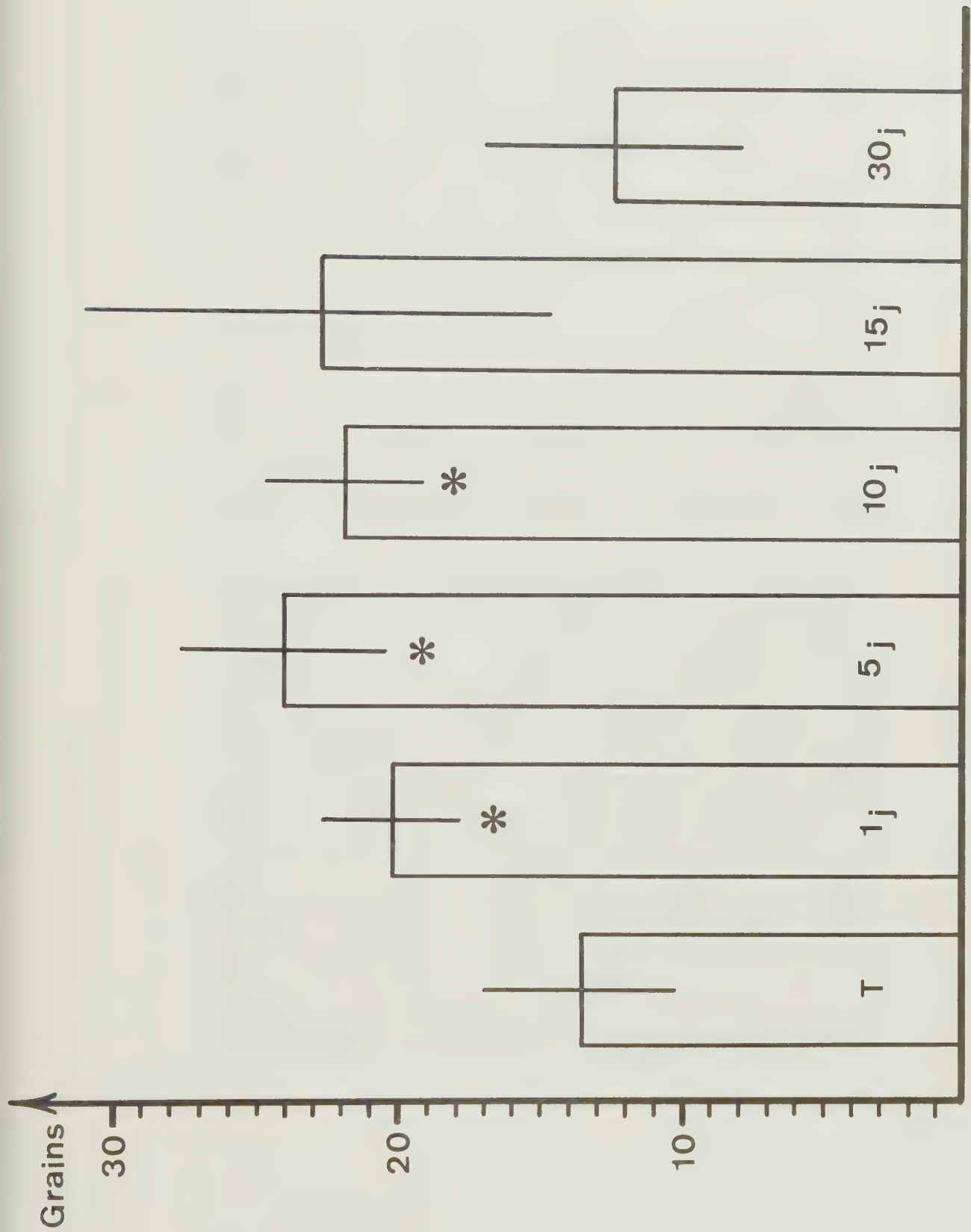


FIGURE 5

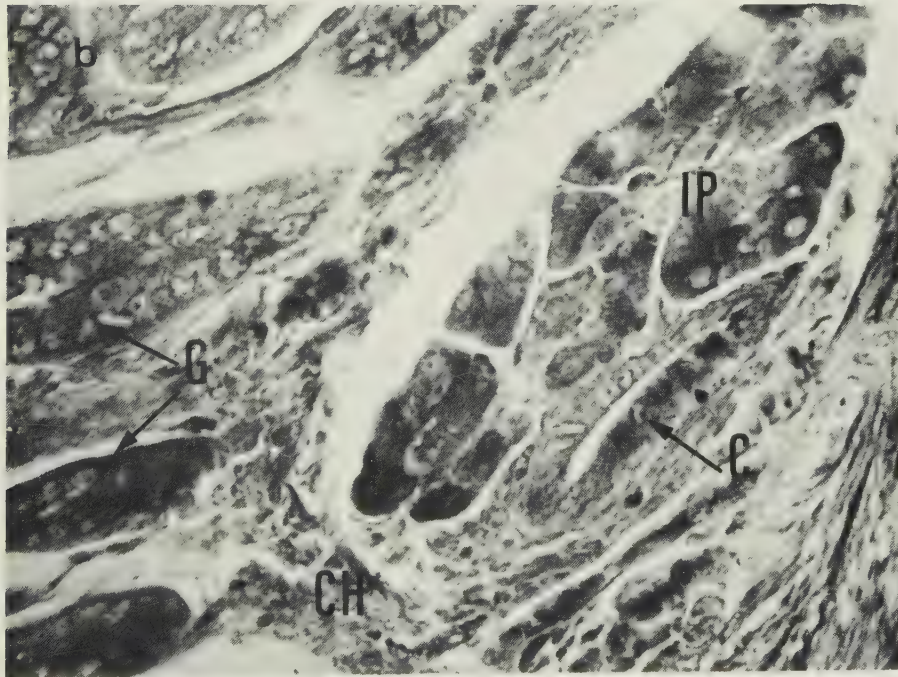
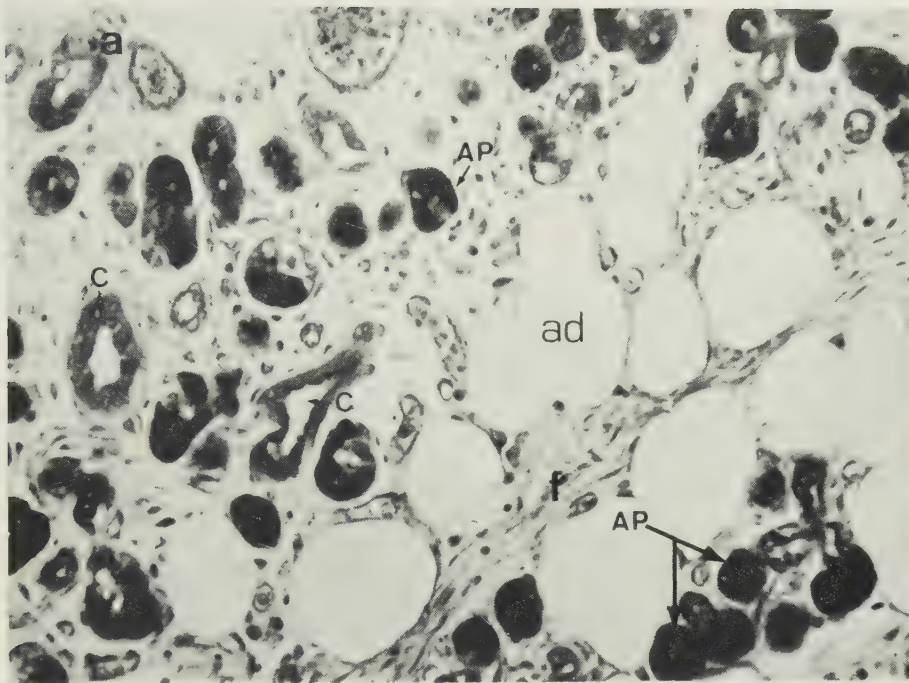
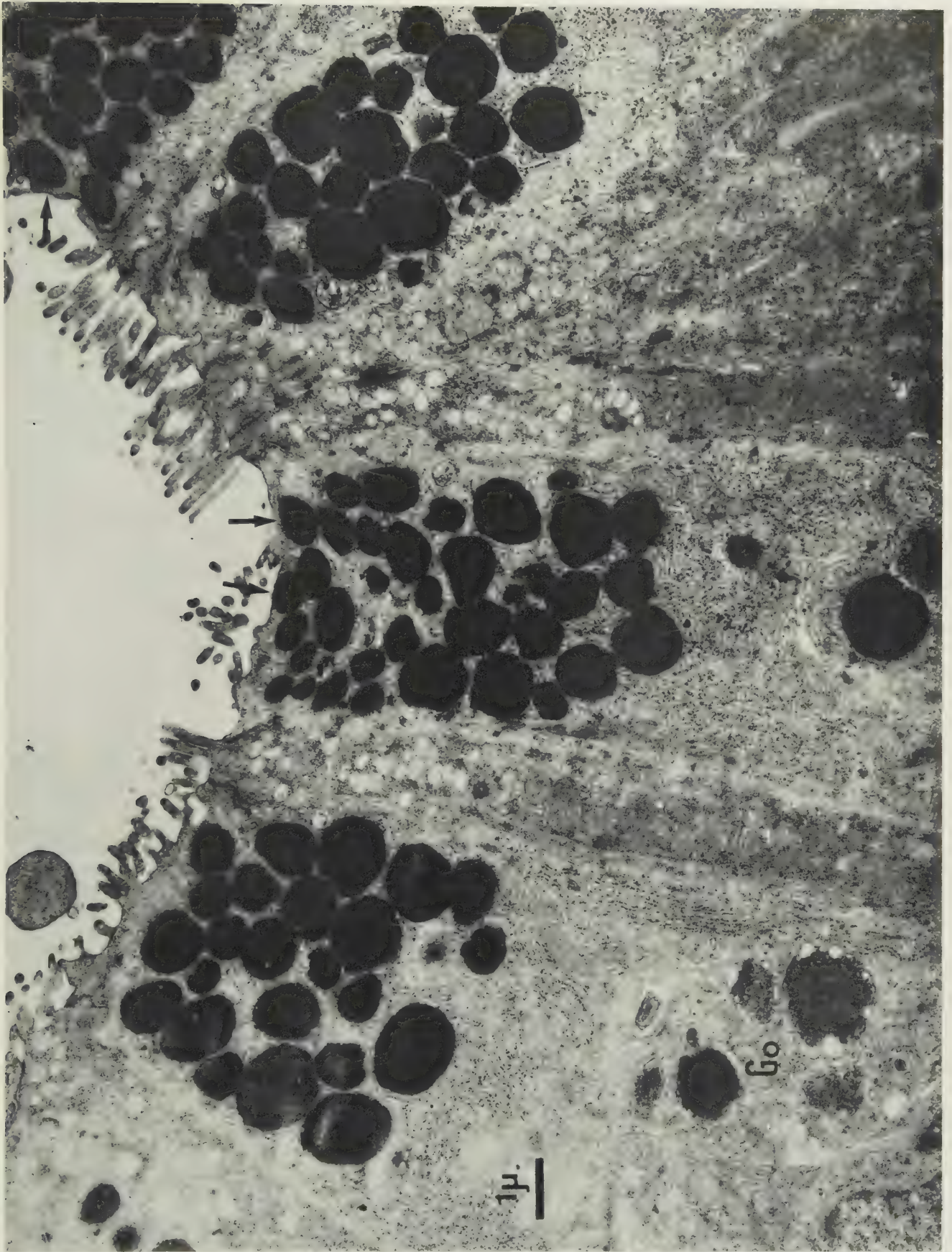


FIGURE 6



CHAPITRE IV-I

CONTROLE NERVEUX DE LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH



CONTROLE NERVEUX DE LA SECRETION DES CELLULES DE PANETH

Le contrôle nerveux de la sécrétion des cellules de Paneth a déjà été mis en évidence par de nombreux auteurs (CORDIER, 1923 - STANLEY et TRIER, 1965 - TRIER et Coll, 1967, AHONEN, 1970-1973).

Nous n'avons donc pas axé notre travail sur ce type d'étude. Nous avons cependant, chez le Hamster, vérifié l'action sécrétoire des parasympathico et des sympathico-mimétiques.

Protocole expérimental

Chez des Hamsters à jeun depuis 48 heures, nous avons administré, en injection unique intrapéritonéale, deux types de parasympathicomimétiques :

- La Prostigmine aux doses de $5 \cdot 10^{-2}$, $5 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-4}$ mg/kg
- La Carbomyl-choline (CCh) aux doses de 1000, 100 et 10 μ /kg

Par groupes de 10, les animaux ont été sacrifiés 7, 15, 30, 45 et 60 minutes après l'injection.

D'autre part, dix Hamsters, à jeun depuis 48 heures, ont reçu toutes les dix minutes, 20 μ g/kg d'Adrénaline en injection intrapéritonéale. Ils ont été sacrifiés à la 60ème minute.

Dans tous les cas, nous avons prélevé le tiers inférieur du jéjunum.

Résultats

a. Parasympaticomimétiques

	Prostigmine		Carbomyl-choline	
	$5 \cdot 10^{-2}$ mg/kg	$5 \cdot 10^{-3}$ mg/kg	1000 μ /kg	100 μ /kg
Témoins	0,613 $\pm$ 0,042	0,613 $\pm$ 0,042	0,613 $\pm$ 0,042	0,613 $\pm$ 0,042
10 mn	0,117 $\pm$ 0,036	0,601 $\pm$ 0,053	0,486 $\pm$ 0,080	0,589 $\pm$ 0,066
20 mn	0,954 $\pm$ 0,079	0,543 $\pm$ 0,078	0,312 $\pm$ 0,600	0,603 $\pm$ 0,056
30 mn	0,239 $\pm$ 0,066	0,592 $\pm$ 0,063	0,387 $\pm$ 0,044	0,636 $\pm$ 0,058
45 mn	0,268 $\pm$ 0,129	0,634 $\pm$ 0,052	0,502 $\pm$ 0,035	0,597 $\pm$ 0,072
60 mn	0,411 $\pm$ 0,117	0,624 $\pm$ 0,043	0,612 $\pm$ 0,060	0,596 $\pm$ 0,039

taux significativement différents par rapport aux témoins.

b. Sympathicomimétiques : Adrénaline

Témoins :	0,620 $\pm$ 0,044
Expérimentés :	0,734 $\pm$ 0,048

Les principaux résultats sont transcrits sur le graphique de la figure I.

A l'analyse des tableaux et du graphique :

- La Prostigmine ou la CCh provoquent la dégranulation rapide des cellules de Paneth. Cette dégranulation est plus importante après injection de Prostigmine.

- Les injections itératives d'Adrénaline entraînent une augmentation du taux de charge des cellules de Paneth.

Nous confirmons ainsi les travaux antérieurs qui ont montré,

- une stimulation de l'excrétion après injection de Pilocarpine.
- une inhibition de l'excrétion avec accumulation des grains de

zymogène dans l'apex cellulaire après atropinisation.

Nous sommes toutefois surpris par la nécessité d'utiliser des doses très importantes de Prostigmine ($5 \cdot 10^{-2}$ mg/kg) ou de CCh (1000 μ /kg) pour obtenir l'effet sécrétoire.

A ces doses, la microscopie optique permet de visualiser de très nombreuses images d'excrétion.

En microscopie électronique, entre les 10ème et 20ème minutes après injection de $5 \cdot 10^{-2}$ mg/kg de Prostigmine ou 1000 μ /kg de CCh, l'aspect ultrastructural de la cellule de Paneth est considérablement remanié (fig. 2a). L'excrétion ne se produit plus selon un mode mérocrine mais par émission brutale à l'intérieur de la lumière glandulaire de la totalité du contenu zymogénique apexien. Le hyaloplasme supra-nucléaire de la cellule de Paneth est alors en contact direct avec la lumière glandulaire. La cellule peut exceptionnellement se vider en totalité ; le noyau disparaissant alors.

Si l'observation optique ne montrait pas de variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth aux doses plus faibles de Prostigmine ou de CCh, la microscopie électronique visualise cependant des images particulières de pré-excrétion mérocrine. Nous avons été frappés par l'élargissement de la lumière glandulaire (fig. 2b). Corrélativement la hauteur des cellules de Paneth diminue et la tension intra-cytoplasmique semble accrue (les grains de zymogène sont déformés par les grains adjacents). Enfin, à plus fort grossissement, nous avons pu constater que le système micro-tubulaire à disposition axiale dans la cellule (cf. chapitre III B) était contracté formant des faisceaux densifiés au sein du 1/3 médian et supérieur du cytoplasme de la cellule de Paneth (fig. 2c).

L'Adrénaline, au contraire, provoque une augmentation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth. La microscopie électronique montre une accumulation de grains de zymogène apexiens (fig. 2d). L'exocytose des grains semble inhibée : les microvillosités apexiennes sont nombreuses. Nous avons également noté un accroissement du nombre des lysosomes secondaires autophagiques dans la zone golgienne.

Discussion

Nos observations sont conformes aux résultats obtenus précédemment par les différents auteurs.

Des doses élevées de parasymphicomimétiques entraînent une exocytose anormale du contenu zymogénique des cellules de Paneth avec effraction du pôle apical. Or c'est en utilisant des doses équivalentes que GENT et CREMER (1972) ont émis l'hypothèse que la cellule de Paneth était responsable de la sécrétion d'acides aminés. Peut-on admettre qu'il s'agisse d'une sécrétion physiologique?(ce point particulier sera discuté dans le chapitre VI).

Aux doses physiologiques les parasymphicomimétiques ne provoquent pas d'excrétion zymogénique notable mais exercent une action importante sur le système microtubulaire et microfilamentaire de la cellule de Paneth. C'est donc par l'intermédiaire du système microtubulaire, très développé dans la cellule de Paneth, que s'exercerait le mécanisme de stimulation cholinergique et vagal. Une telle hypothèse expliquerait également la présence d'un appareil centrosomique très développé dans la cellule de Paneth. Une confirmation pourrait être apportée par la réalisation d'expériences complémentaires utilisant des drogues efficaces sur l'appareil micro-tubulaire et tonofilamentaire (Cytochalasine B, hexylène glycol).

Figure 1 :

Variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth,

a. Après injection de 5×10^{-2} mg/kg de Prostigmine

b. Après injection de 1000 α de Carbomyl-choline.

Figure 2 :

a. Aspect ultra-structural des cellules de Paneth 10 minutes après injection de 5×10^{-2} mg/kg de Prostigmine. A cette dose, la stimulation de la sécrétion des cellules de Paneth est très importante, l'excrétion ne se fait plus selon un mode strictement mérocrine. Noter les images d'amputation des cellules (*) pouvant même aboutir à la disparition du noyau de la cellule de Paneth.

b. Aspect ultra-structural des cellules de Paneth 10 minutes après injection de 5×10^{-3} mg/kg de Prostigmine. Noter l'élargissement de la lumière glandulaire (L), les images de pré-excrétion mérocrine des grains de zymogène apexiens (flèches), la présence des faisceaux denses de tonofilaments et de micro-tubules dans l'étage supra-nucléaire de la cellule (encadrés).

c. Encart de la figure 2b à un plus fort grossissement montrant l'aspect particulier du dispositif tonofilamentaire et microtubulaire après injection de Prostigmine.

d. Aspect ultra-structural des cellules de Paneth après injection d'Adrénaline. Noter l'importance de la charge zymogénique.



FIGURE 1

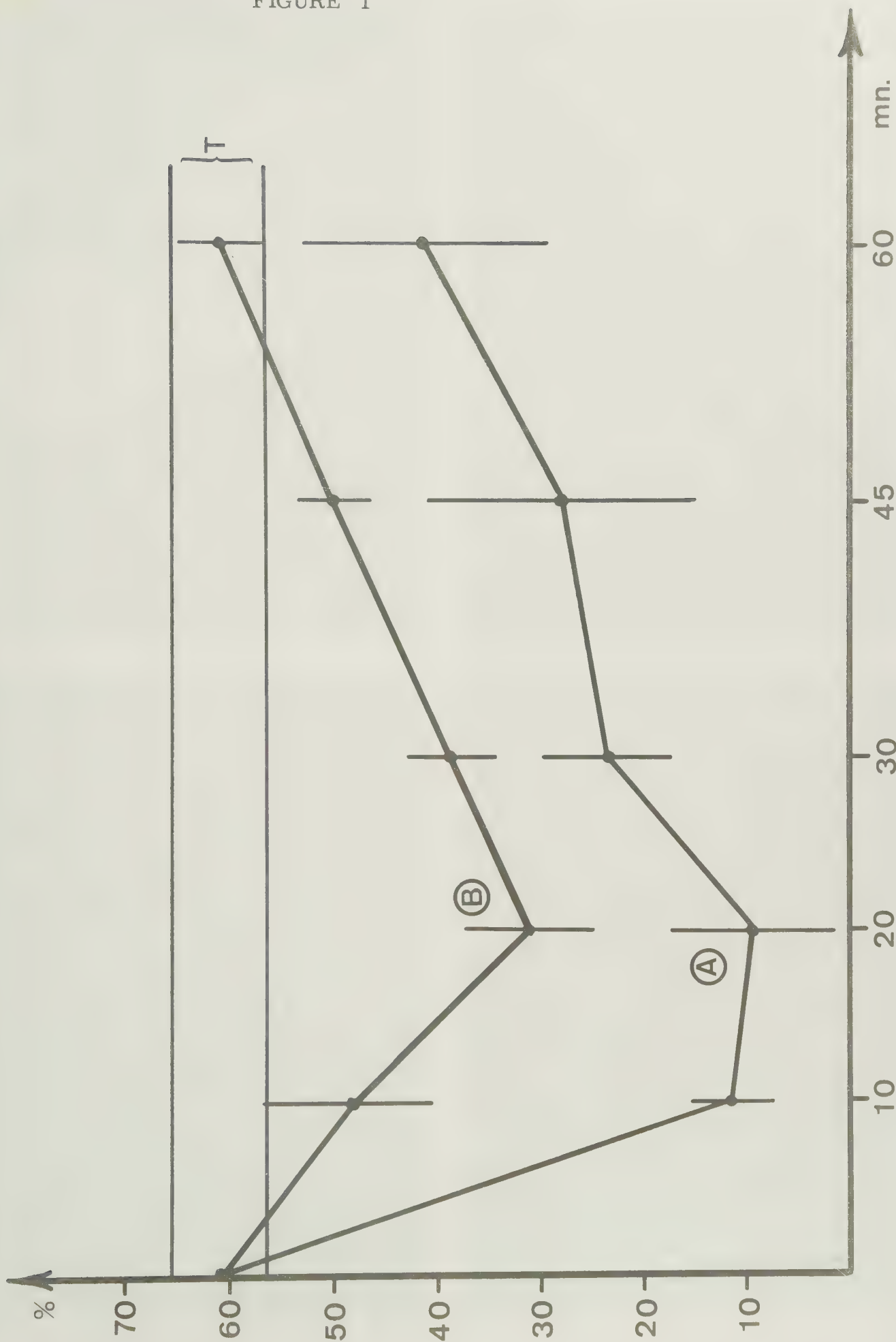
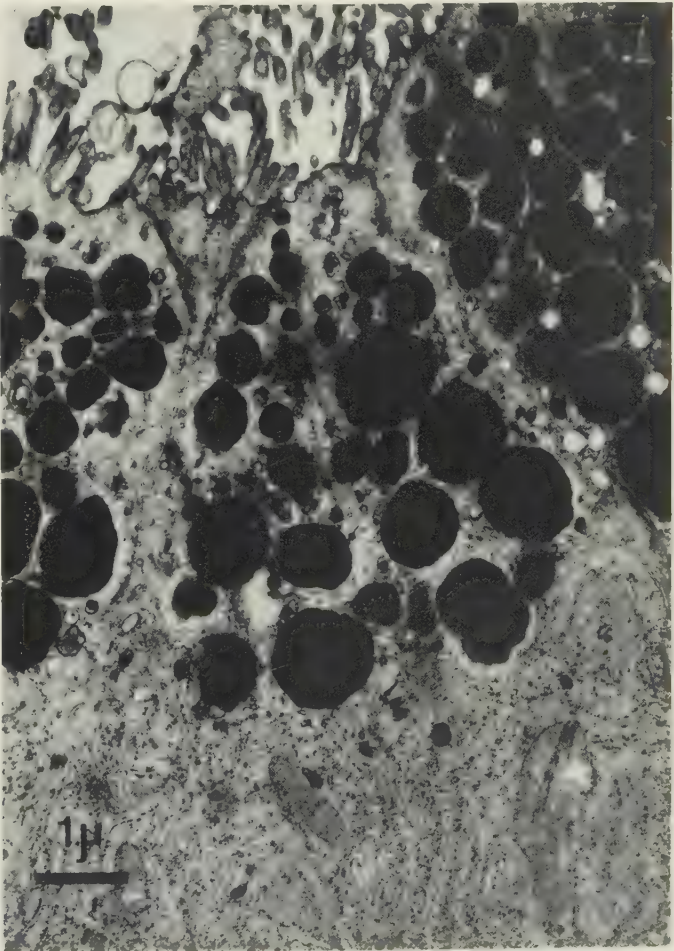
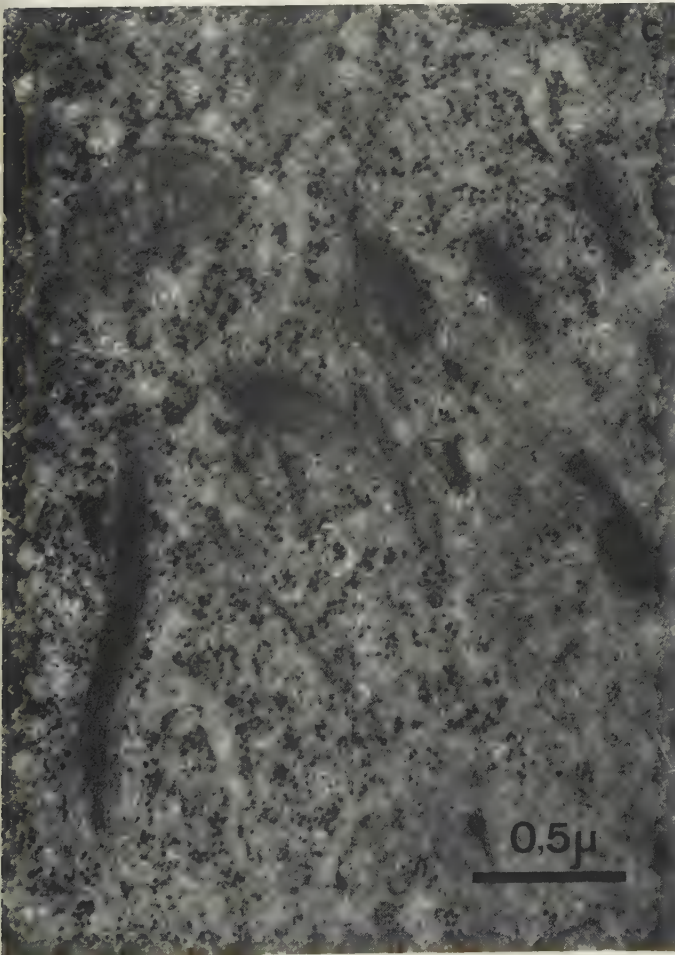
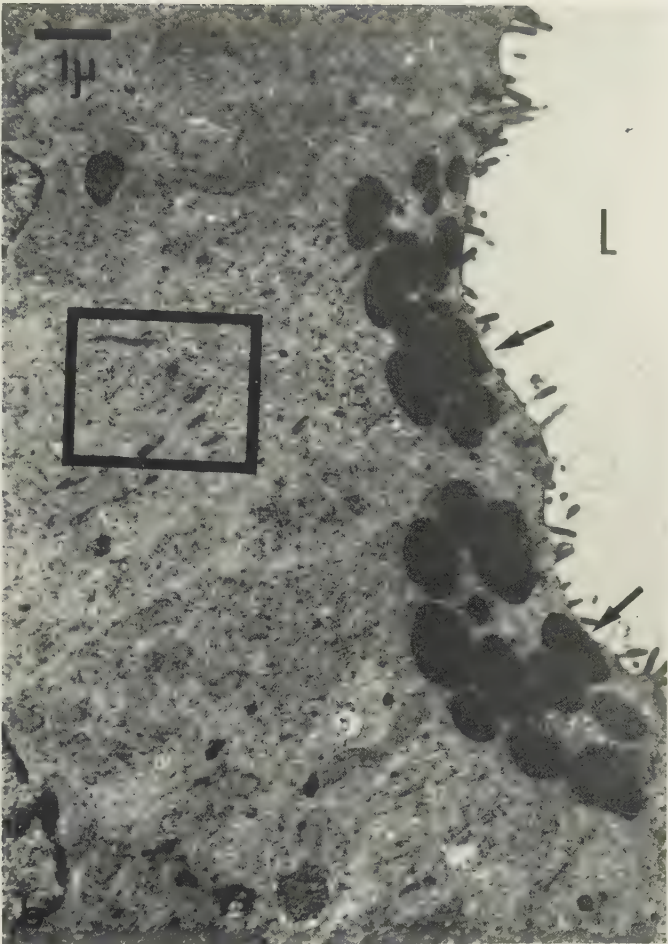
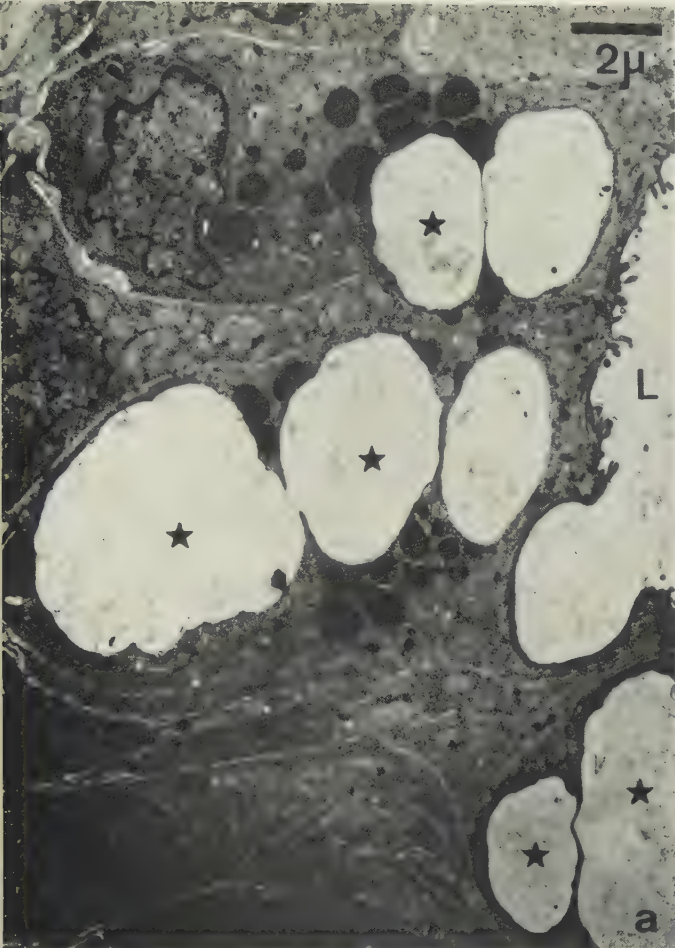


FIGURE 2





CHAPITRE V.

ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA CELLULE DE PANETH :

II

REGULATION NEURO ENDOCRINIENNE EN DEHORS DES EPISODES DIGESTIFS

- Rôle des glandes surrénales
- Rôle des gonades
- Rôle de la Thyroïde
- Rôle de l'hypophyse
- Rythme nycthéméral et saisonnier.



REGULATION NEURO ENDOCRINIENNE EN DEHORS DES EPISODES DIGESTIFS

A notre connaissance aucune étude d'ensemble sur d'éventuelles régulations neuro-endocriniennes des cellules de Paneth en dehors des épisodes digestifs n'a été réalisée à ce jour.

Toutefois, en 1954, BAKER et BRIDGMAN ont mis en évidence chez le Rat une turgescence et un accroissement de la charge granulaire des cellules de Paneth après surrénalectomie : les grains sont plus volumineux, leur charge protidique diminue et leur fraction mucopolysaccharidique est accrue. Ces résultats ont été confirmés, également chez le Rat, par LAUMONIER et METAYER (1967).

Nous avons donc tenté de préciser le rôle des grands groupes de glandes endocrines sur les processus sécrétoires des cellules de Paneth.

Cette étude a été réalisée essentiellement chez le Hamster. En effet les techniques d'exérèse ou de transplantation sont difficilement réalisables chez la Souris ; d'autre part quelques expérimentations effectuées sur le Rat n'ont jamais apporté de résultats reproductibles et significatifs (présence de surrénales accessoires, importance du stress chez cet animal).

LE ROLE DES GLANDES SURRENALES

Après vérification des effets de la surrénalectomie, pour dissocier l'effet cortico-surrénalien de l'effet induit par la médullo-surrénale, nous avons alors effectué des surrénalectomies suivies d'auto-greffes surré-

naliennes,

1°) sur le péritoine ou dans la chambre antérieure de l'oeil, pour préserver et conserver la sécrétion cortico-surrénalienne ; la médullo surrénale dégénérant dans le greffon.

2°) dans le testicule pour préserver essentiellement la sécrétion de la médullo-surrénale.

Nous avons également étudié l'effet des différentes hormones surrénaliennes.

Matériel et Techniques

1°) Par groupe de 10, des Hamsters ont été sacrifiés 1, 2, 3 et 4 jours après surrénalectomie bilatérale. La surrénalectomie a été pratiquée par voie dorsale rétro-péritonéale. Cette intervention nécessite, chez le Hamster, une anesthésie au Nembutal à minima (40 mg/kg en intra-péritonéal) et un réchauffement de l'animal jusqu'au réveil complet. Sans ces précautions l'animal tombe très fréquemment dans un état de pré-hibernation aboutissant à la mort en 24 à 48 heures. Dans tous les cas la survie des animaux n'excède pas une semaine.

2°) Sur des Hamsters surrénalectomisés nous avons pratiqué une auto-greffe d'une des surrénales dans la chambre antérieure de l'oeil ou dans un repli péritonéal du mésentère. Les animaux par groupe de cinq furent sacrifiés au 4ème, 10ème et 15ème jour. La persistance et la qualité fonctionnelle de la greffe ont fait l'objet d'une étude histologique systématique :

- par la technique de fluorescence au Benzopyrène - Caféine (BERG 1951) ou la réaction de ROMER (1964) pour vérifier la persistance de la synthèse des corticostéroïdes (planche n° 1).

- par la technique d'ERANKO (1964) pour vérifier la dégénérescence de la médullo-surrénale et l'absence de sécrétion résiduelle de catécholamines.

Nous avons ainsi pu constater que les résultats positifs de la greffe étaient identiques, que celle-ci fut réalisée au niveau du péritoine

ou dans la chambre antérieure de l'oeil. Nous avons donc choisi la greffe péritonéale, techniquement plus facile sur le plan opératoire. Il est à noter néanmoins qu'une sécrétion résiduelle de catécholamines ne disparaissait souvent qu'à partir du 9ème ou 10ème jour (planche n° 1).

3°) L'autogreffe surrénalienne a également été pratiquée dans les testicules selon la technique de CANGUILHEM et PETROVIC (1960). Les animaux furent sacrifiés 15 jours après la greffe. Dans ce cas nous n'avons pu réaliser un contrôle systématique du greffon car il est souvent difficile de le retrouver au sein du parenchyme testiculaire. Toutefois, en se référant aux travaux de CANGUILHEM et PETROVIC la survie au 15ème jour s'accompagne toujours d'un taux normal des catécholamines plasmatiques.

4°) Sur 10 Hamsters surrénalectomisés, nous avons étudié l'influence de différentes hormones glucocorticoïdes et minéralo-corticoïdes: Cortisone, Cortisol, Bétaméthasone (glucocorticoïde de synthèse), Désoxycorticostérone. Ces hormones ont été administrées pendant 4 jours ; la dose quotidienne a été fractionnée en deux injections intrapéritonéales à douze heures d'intervalle. Les animaux furent sacrifiés une heure après la dernière injection.

5°) Un groupe de 10 Hamsters a reçu pendant cinq jours une dose quotidienne de 20 mg/kg de Cortisol pour vérifier l'action éventuelle de doses élevées de gluco-corticoïdes.

Dans toutes ces expériences, les animaux ont été soumis à une diète hydrique de 24 heures avant d'être sacrifiés pour prélever la portion basse du jéjunum.

Résultats

I - Taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez les animaux Témoins (10)

$$0,608 \pm 0,053$$

II - Taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez les animaux surrénalectomisés.

- 24 heures après la surrénalectomie
(10 animaux) : $0,936 \pm 0,054$
- 48 heures après la surrénalectomie
(10 animaux) : $0,892 \pm 0,047$
- 72 heures après la surrénalectomie
(10 animaux) : $0,914 \pm 0,055$

III - Taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez les animaux dont la surrénale a été greffée sur le péritoine.

- 4 jours après la greffe (5 animaux) : $0,464 \pm 0,055$
- 10 jours après la greffe (5 animaux) : $0,650 \pm 0,042$
- 15 jours après la greffe (5 animaux) : $0,691 \pm 0,044$

IV - Taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez les animaux dont la surrénale a été greffée dans le testicule (6 animaux) :

$0,610 \pm 0,034$

V - Taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez les animaux surrénalectomisés et ayant reçu pendant 4 jours des doses quotidiennes de,

- Cortisone (2 mg/kg) : $0,565 \pm 0,017$
- Cortisol (2 mg/kg) : $0,511 \pm 0,036$
- Bétaméthasone (8 mg/kg) : $0,559 \pm 0,044$
- Désoxycorticostérone (1 mg/kg) : $0,807 \pm 0,047$

VI - Taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez les animaux ayant reçus quotidiennement 20 mg/kg de Cortisol pendant 5 jours :

$0,588 \pm 0,052$

Les principaux résultats sont reproduits dans le graphique de la Planche n° 1.

La surrénalectomie :

La surrénalectomie entraîne une augmentation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth dès le premier jour après l'intervention. Nous confirmons ainsi ce qui avait pu déjà être observé chez le Rat par BAKER et BRIDGMAN ainsi que LAUMONIER et METAYER.

Les cellules sont turgescentes, les grains occupent non seulement l'apex cellulaire mais également les espaces latéro-nucléaires, atteignant même parfois la zone basale de la cellule (Planche n° 2). Les grains sont beaucoup plus volumineux ; toutefois après réaction à l'A.P.S., leur fraction mucopolysaccharidique ne nous a pas paru augmentée (contrairement à ce qui a pu être observé par BAKER et BRIDGMAN).

L'étude ultrastructurale précise les résultats optiques,

a. 24 h après la surrénalectomie (Planche III, fig. 1), la charge granulaire des cellules de Paneth s'accroît considérablement. Les grains sont souvent déformés par les grains adjacents et leur diamètre est variable (de 0,3 à 1 μ). La zone golgienne s'hypertrophie, l'élaboration des grains est accrue. La polarité cellulaire paraît moins stricte et certains grains viennent s'accumuler dans les espaces latéro-nucléaires. On assiste en même temps à l'apparition de nombreux phagosomes dans la région supra-nucléaire. Ces formations sont parfois en contact ou même en continuité avec des grains de sécrétion immatures (Planche III, fig. 2).

b. 48 h après la surrénalectomie, la charge granulaire apexienne est devenue considérable, débordant sur les espaces latéronucléaires. Les grains sont plus volumineux que chez les animaux témoins et atteignent 3 μ de diamètre. L'apex cellulaire fait souvent hernie à l'intérieur de la lumière glandulaire où il s'ouvre par effraction (Planche III, fig. 3). Des grains encore intacts comblent la lumière (Planche III, fig. 4). Le mode d'excrétion n'est donc plus strictement mérocrine. Cependant des déformations en cupule du pôle apical traduisent la persistance de la sécrétion mérocrine (cf. chapitre IV-B) qui paraît accélérée (Planche III, fig. 4).

c. 72 h après la surrénalectomie, l'aspect granulaire se modifie. Les grains sont moins opaques aux électrons et revêtent des aspect variables

suivant la densité de leur contenu (Planche III, fig. 5 et 6). La zone golgienne est toujours hypertrophiée. La région basale de la cellule, et plus particulièrement le réticulum granulaire, subit une destruction importante : les feuilletts ergastoplasmiques sont vidés de leur contenu et les ribosomes disparaissent (Planche III, fig. 5 et 7).

d. Au 4ème jour, la souffrance cellulaire est considérable. Les cellules de Paneth sont turgescentes, vidées de leur contenu, elles forment un ensemble vacuolaire. Quelques dictyosomes golgiens persistent ; le réticulum granulaire a totalement disparu ; le noyau, dont l'aspect devient pycnotique, est refoulé au pôle basal. De nombreux phagosomes occupent la zone basale de la cellule qui est en voie de nécrose. Nous avons également constaté une augmentation importante et corrélative des mitoses de régénération au niveau des éléments voisins.

Il est surprenant de constater que seules les cellules de Paneth paraissent intéressées par le processus, nous n'avons pas noté de modifications cytologiques majeures au niveau des autres éléments cellulaires constituant l'épithélium de la muqueuse intestinale.

La greffe surrénalienne sur le péritoine :

Au contraire la greffe surrénalienne péritonéale compense les effets de la surrénalectomie (Planche n° I et II c). Toutefois à partir du 10ème jour le taux de charge granulaire augmente pour devenir significativement supérieur, au 15ème jour, à celui observé chez les animaux témoins.

Au 4ème jour après greffe surrénalienne (Planche IV) les grains occupent strictement le pôle apical de la cellule (fig. 1) ; leur diamètre n'excède pas $1,5 \mu$, leur charge protidique est dense. Le mode d'excrétion est à nouveau du type mérocrine (fig. 2).

La maturation granulaire au niveau de la zone golgienne est normale, les phagosomes sont rares ou absents (fig. 3). Le réticulum endoplasmique granulaire conserve un aspect fonctionnel ; les feuilletts ergastoplasmiques sont orientés, parallèles entre eux et élaborent les précurseurs de la synthèse granulaire. Le noyau paraît actif et conserve une zone dense périphérique d'hétérochromatine (fig. 4).

Au 15ème jour si l'aspect cytologique général est comparable à celui observé chez les animaux témoins, nous avons cependant noté une augmentation importante du nombre de grains de zymogène apicaux associée à des images d'hypersécrétion de la zone golgienne.

La greffe surrénalienne dans le testicule :

15 jours après greffe totale de la surrénale sur le testicule, le taux de charge granulaire des cellules de Paneth est comparable à celui observé chez les animaux témoins (Planche I). L'aspect cytologique, en microscopie optique, n'est pas modifié. Il en est de même sur le plan ultrastructural.

Les glucocorticoïdes :

Les glucocorticoïdes, comme la Cortisone, le Cortisol ou même un corticoïde de synthèse comme la Bétaméthasone, compensent les effets de la surrénalectomie (les taux de charge granulaire ne sont pas significativement différents par rapport aux témoins) (Planche n° I et II). Nous avons reporté les doses minimales efficaces.

Des doses supérieures ne nous ont pas permis de constater une variation plus importante du taux de charge granulaire. D'ailleurs, chez l'animal non surrénalectomisé, l'administration de doses très élevées de Cortisol (20 mg/kg/j) ne provoquent pas d'augmentation significative de ce taux par rapport aux animaux témoins (Planche n° I).

En microscopie électronique après surrénalectomie suivie d'injection de glucocorticoïdes, l'aspect des cellules de Paneth est peu différent de celui observé chez les animaux témoins (Planche n° V). Les grains ont une forte densité électronique et n'excèdent que très rarement 2 μ de diamètre (fig. 1). Leur mode d'excrétion est à nouveau de type mérocrine et les microvillosités apexiennes sont conservées (fig. 2). Nous avons cependant été frappés par l'existence d'une charge granulaire plus importante que chez les individus témoins. En outre, la zone golgienne reste hypertrophique et la néosynthèse des grains de sécrétion est très importante (fig. 3). Les images de phagosome sont toujours exceptionnelles. Il y a par contre restitution parfaite au niveau du réticulum granulaire (fig. 4). Après injection de Cortisol nous avons remarqué l'aspect particulier des mitochondries : celles-ci sont

contractées, leurs crêtes sont épaissies et leur matrix plus dense. Nous notons également la présence de corps intra-nucléaires de type II selon la classification de DAHL (1969).

Les minéralocorticoïdes :

L'emploi d'un minéralocorticoïde comme la Désoxycorticostérone paraît inefficace pour compenser les effets de la surrénalectomie (Planche n° I). Une légère diminution du taux de charge cellulaire n'a pu être obtenue qu'en utilisant des doses nettement supérieures à celles nécessaires pour induire les effets sur le métabolisme hydrominéral. Cet abaissement du taux doit pouvoir être imputé à l'effet glucocorticoïde résiduel que possède, à cette dose, la Désoxycorticostérone.

Discussion

Les effets de la surrénalectomie et leur compensation par l'auto-greffe surrénalienne confirment donc le rôle important joué par les glandes surrénales sur le mécanisme sécrétoire des cellules de Paneth.

Les glucocorticoïdes, à eux seuls, restituent la synthèse cellulaire au niveau du réticulum granulaire donc des premières étapes de la synthèse protidique des cellules de Paneth.

Ces constatations purement morphologiques paraissent pouvoir concorder avec les notions actuelles de l'action intracellulaire des hormones glucocorticoïdes. Que ce soit au niveau de la replication, de la transcription ou de la traduction de l'information nucléique, les glucocorticoïdes aboutissent dans les 3 cas à une augmentation de la synthèse protéique aux étapes nucléaires nucléolaires ou ribosomales (HECHTER et HALKERSTON 1965, TATA 1966, KORNER 1967, O'MALLEY 1969, COX et MATHIAS 1969, HERS, de WOLF, STALMANS et V. de BERTHE 1970).

D'autre part, si en accord avec RIECKEN et PEARSE (1966) les grains de sécrétion des cellules de Paneth sont apparentés à des structures lysosomiales, il ne paraît pas impossible que les glucocorticoïdes puissent également jouer un rôle au niveau de la maturation golgienne du grain. Plus exactement, comme l'ont montré WEISSMAN et THOMAS (1963), SYMONS, LEWIS et ANCILL

(1969), les glucocorticoïdes pourraient avoir une action protectrice de la membrane d'enveloppe du grain, limitant ainsi la possibilité de libération de leur contenu enzymatique intra-granulaire. Or il est surprenant de constater, très rapidement après surrénalectomie, l'apparition d'images de phagosome aboutissant dès le quatrième jour à une nécrose cytoplasmique de la cellule de Paneth. En outre, nous avons pu visualiser, 24 heures après surrénalectomie, des images d'ouverture de grains de sécrétion encore immatures au sein de phagosomes situés dans la zone golgienne (Planche III, fig. 2).

Mais si les glucocorticoïdes sont indispensables pour les mécanismes de synthèse de la cellule de Paneth, des doses supérieures aux doses limitales efficaces, n'en augmentent pas les effets. Les glucocorticoïdes représentent donc une hormone "trophique" sur la fonctionnalité des cellules de Paneth.

Enfin si les glucocorticoïdes restituent la synthèse au niveau du réticulum endoplasmique granulaire après surrénalectomie, nous avons cependant noté la persistance d'une hypersécrétion golgienne avec augmentation du nombre des grains zymogéniques apexiens au sein de chaque cellule (bien que le taux de charge global au niveau de l'ensemble des glandes de Lieberkühn à un étage donné reste comparable à celui observé chez les animaux témoins). D'autre part, l'hypertrophie golgienne apparaît à nouveau à partir du 15ème jour consécutif à l'auto-greffe surrénalienne sur le péritoine, c'est-à-dire, au moment de la disparition de toute sécrétion résiduelle de catécholamines par le greffon. Au contraire, l'hypertrophie golgienne ne s'observe pas après la greffe dans le testicule, greffe qui préserve l'intégrité de la médullo-surrénale et la sécrétion des catécholamines. Un facteur médullo-surrénalien, probablement les catécholamines, pourrait donc avoir une action freinatrice sur la maturation et l'exocytose granulaire. (cf. chapitre IV-I)

En conclusion la glande surrénale semble jouer un rôle primordial dans la "modulation" des processus sécrétoires des cellules de Paneth grâce à l'action des glucocorticoïdes mais peut-être aussi par l'intermédiaire des catécholamines.

Des techniques d'étude plus élaborées (en particulier autoradiographie après incorporation d'acides aminés marqués) devraient permettre de

préciser plus finement à l'échelon de l'organite cellulaire le site d'action sur la cellule de Paneth des différentes hormones surrénaliennes.

LE ROLE DES GONADES

Nous avons vérifié le rôle éventuel des sécrétions stéroïdes par les gonades dans les deux sexes chez le Hamster, le Rat et la Souris.

Chez le Rat et le Hamster nous avons évalué le taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez l'animal à jeun comparativement entre les deux sexes. Nous avons également étudié l'influence de la castration un mois après l'intervention.

Chez la Souris nous avons simplement comparé le taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez des mâles et des femelles à jeun non castrés.

Résultats

A. HAMSTER :

- a. Hamsters mâles après 48 heures de jeûne
(10 animaux) : $0,609 \pm 0,053$
- b. Hamsters femelles après 48 heures de jeûne
(10 animaux) : $0,626 \pm 0,047$
- c. Hamsters mâles castrés après 48 heures
de jeûne (10 animaux) : $0,631 \pm 0,074$
- d. Hamsters femelles ovariectomisées
(10 animaux) : $0,585 \pm 0,0126$

B. RAT :

- a. Rats mâles après 48 heures de jeûne
(5 animaux) : $0,832 \pm 0,066$
- b. Rats femelles après 48 heures de jeûne
(5 animaux) : $0,874 \pm 0,093$

c. Rats mâles castrés après 48 heures de jeûne (5 animaux) :	$0,887 \pm 0,114$
d) Rats femelles ovariectomisées (5 animaux) :	$0,910 \pm 0,133$

3. SOURIS :

a. Souris mâles après 48 heures de jeûne (10 animaux) :	$0,640 \pm 0,025$
b. Souris femelles après 48 heures de jeûne (10 animaux) :	$0,636 \pm 0,030$

Discussion

Les résultats ne montrent, quelles que soient les espèces considérées, aucune variation significative entre les sexes mâle et femelle. D'autre part, les taux de charge granulaire des cellules de Paneth ne sont pas significativement différents avant ou après castration.

Dans ces conditions, il ne semble pas exister de retentissement des gonades et des hormones sexuelles sur l'aspect des cellules de Paneth chez l'animal à jeun.

LA GLANDE THYROÏDE

Devant l'action facilitatrice des glucocorticoïdes sur la synthèse ergastoplasmique des cellules de Paneth, il semble nécessaire de tester également le rôle éventuel de la glande thyroïde et des hormones thyroïdiennes sur cet élément cellulaire. En effet les hormones thyroïdiennes :

1°) activent la transcription au cours de la synthèse protéique (TATA 1965-67) et en particulier la synthèse du r ARN (WYATT et TATA 1968),

2°) accélèrent le transport nucléo-cytoplasmique des ARN (NAKAGAWA, KIM et COHEN 1967),

3°) accélèrent la synthèse protéique au niveau de la traduction ribosomale (TATA 1968, KRAUSE et SATROLOFF 1967, GARREN, RICHARDSON et CROCCO 1967).

Matériel et Techniques

L'expérimentation a uniquement été réalisée sur le Hamster,

1°) 5 Hamsters mâles ont été thyroïdectomisés par électro-coagulation de la glande sous anesthésie au Nembutal. Pour éviter un oedème trachéal post-opératoire et le choc de l'intervention, les animaux ont reçu immédiatement après coagulation du parenchyme thyroïdien une injection intrapéritonéale de Cortisone (5 mg/kg). Les animaux sont maintenus à une température ambiante de 26° c.

5 jours après la thyroïdectomie, les animaux sont sacrifiés ; les parties hautes, moyennes et basses du jéjunum sont prélevées.

2°) 10 Hamsters mâles reçoivent une dose bi-quotidienne intra-péritonéale de Thyroxine (Roche) à la dose de 0,2 mg/kg.

5 jours après la première injection, les animaux sont sacrifiés après 48 heures de diète hydrique.

3°) Un groupe de 10 Hamsters témoins a été sacrifié après 48 heures de diète hydrique sans avoir subi de thyroïdectomie ou d'injection de Thyroxine.

Résultats

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth :

	Jujéno-iléon	Jéjunum moyen	Jéjunum haut
Hamsters témoins	0,622 $\pm$ 0,053	0,592 $\pm$ 0,077	0,334 $\pm$ 0,121
Hamsters thyroïdectomisés	0,712 $\pm$ 0,044	0,691 $\pm$ 0,103	0,486 $\pm$ 0,153
Hamsters + Thyroxine	0,634 $\pm$ 0,046	0,550 $\pm$ 0,062	0,371 $\pm$ 0,092

Les résultats sont reportés sur la planche n° VI.

Discussion

Ainsi les hormones thyroïdiennes ne paraissent pas agir sur la synthèse granulaire des cellules de Paneth.

Une action plus importante pourrait être visualisée au cours de la réalimentation de l'animal en étudiant la vitesse de re-synthèse du stock granulaire dans les minutes qui suivent l'excrétion zymogénique (par autordiographie).

Enfin l'action positive des hormones thyroïdiennes sur la synthèse protéique est particulièrement nette dans les processus de morphogénèse. Une étude de l'action des hormones thyroïdiennes sur la rapidité d'apparition des cellules de Paneth chez les Rongeurs après la naissance (cf. chapitre III D) pourrait donc s'avérer fructueuse. Il en est de même de l'étude éventuelle du retentissement de la glande thyroïde sur la morphologie de la cellule de Paneth chez le Hamster au cours de l'hibernation, de l'endormissement et du réveil de l'animal.

LE RÔLE DE L'HYPOPHYSE

Etant donné l'action sur les cellules de Paneth, de la glande surrénale, de certaines hormones périphériques et éventuellement de la thyroïde l'hypophyse pourrait également jouer un rôle sur la régulation de la sécrétion des cellules de Paneth.

Nous n'avons pas testé l'action de l'hypophysectomie, techniquement difficile à réaliser chez les petits animaux du laboratoire. Par contre nous avons testé l'action de différents extraits hormonaux anté hypophysaires : A.I.H., T.S.H., G.T.H.

Matériel et Techniques

L'expérimentation portée à la fois sur le Hamster et la Souris.

Les animaux ont été soumis à des injections répétées, bi-quotidiennes de différentes hormones hypophysaires.

ACTH (Choay) : 8 U/kg/j
TSH (Endopancrine) : 10 U/kg/J
STH (Choay) : 10 U/kg/j

Une semaine après les injections les animaux, soumis à une diète hydrique préalable de 48 heures, sont sacrifiés. La partie basse du jéjunum chez le Hamster, la zone médiane chez la Souris ont été prélevées. Un groupe témoin n'a pas reçu d'injection hormonale.

Résultats

	Hamster	Souris
ACTH - Jéjunum inférieur	0,611 + 0,041	0,721 + 0,053
TSH - Jéjunum inférieur	0,637 + 0,061	0,685 + 0,062
STH - Jéjunum inférieur	0,595 + 0,071	0,756 + 0,032
Animaux Témoins Jéjunum inférieur	0,642 + 0,053	0,734 + 0,057

Il n'existe donc pas de variations du taux de charge granulaire des cellules de Paneth après injection des différentes hormones anté-hypophysaires utilisées. Nous n'avons d'ailleurs pas cru remarquer de modification cytologique majeure.

Discussion

L'ACTH par elle-même ne possède pas d'action directe sur les cellules de Paneth ; elle ne peut agir que par l'intermédiaire de la stimulation de la sécrétion cortico-surrénalienne. La TSH et la STH semblent également sans effet.

Mais notre expérimentation est très incomplète :

- Nous n'avons pas pratiqué d'hypophysectomie.
- Il serait nécessaire de tester d'autres hormones hypophysaires.

- Nous n'avons pas observé l'action éventuelle de ces hormones sur la différenciation de la cellule de Paneth dans les jours qui suivent la naissance .

RYTHME NYCTHEMERAL ET SAISONNIER

La sécrétion des cellules de Paneth étant sous la dépendance, en dehors même des épisodes digestifs, de plusieurs glandes endocrines, la possibilité d'une variation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth, en dehors des épisodes digestifs, doit être envisagé en fonction de l'éclairement journalier et de la saison.

L'étude d'un rythme saisonnier nécessiterait de placer les animaux dans leurs conditions écologiques naturelles, ce que nous n'avons pu réaliser. Toutefois, compte tenu des conditions d'installation de l'animalerie du laboratoire (14 heures d'éclairement, 10 heures de nuit) nous n'avons jamais remarqué, en fonction de la saison, de variations importantes dans le taux de charge granulaire des cellules de Paneth.

Nous avons par contre étudié le rôle joué par l'éclairement journalier sur le taux de charge granulaire des cellules de Paneth.

Matériel et Technique

L'expérimentation a été effectuée sur des Hamsters et des Souris dans un local du laboratoire préparé à cet effet.

1°) Chez le Hamster

Les animaux ont été soumis à un rythme artificiel "jour-nuit" par éclairement électrique programmé : 4 lampes 150 watts krypton étant situées à 70 cm au-dessus des cages de contention, la durée du "jour" étant de 14 heures ; la durée de la "nuit" de 10 heures. Par groupe de 10, les animaux ont été sacrifiés 4 semaines après la mise en place du rythme d'éclairement respectivement à la 5ème heure de "nuit", à la 1ère, 7ème et 13ème heure de "jour".

2°) Chez la Souris :

Celles-ci ont été soumises à un protocole similaire. Mais

nous avons fait varier les programmes "jour-nuit" dans leurs durées :

Programmation I "nuit" = 12 h
 "jour" = 12 h

Programmation II "nuit" = 6 h
 "jour" = 18 h

Programmation III "nuit" = 18 h
 "jour" = 6 h

Dans tous les cas les animaux (Souris et Hamsters) ont été soumis à une diète hydrique de 48 heures précédant le prélèvement de la partie basse du jéjunum.

Résultats

A. HAMSTER :

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth :

Nuit : $0,692 \pm 0,043$

Jour : 1ère heure : $0,613 \pm 0,032$

 7ème heure : $0,614 \pm 0,056$

 13ème heure : $0,526 \pm 0,075$

B. SOURIS :

Taux de charge granulaire des cellules de Paneth :

Programme I (12 heures "jour" - 12 heures "nuit")

 1ère heure $0,676 \pm 0,021$

Nuit : 8ème heure $0,744 \pm 0,047$

 13ème heure $0,852 \pm 0,038$

 1ère heure $0,780 \pm 0,038$

Jour : 6ème heure $0,465 \pm 0,026$

 11ème heure $0,588 \pm 0,082$

Programme II (6 heures "nuit" - 18 heures "jour")

Nuit : 3ème heure : $0,708 \pm 0,150$

1ère heure :

Jour : 9ème heure : $0,664 \pm 0,131$

17ème heure : $0,580 \pm 0,134$

Programme III (18 heures "nuit" - 6 heures "jour")

1ère heure : $0,560 \pm 0,058$

Nuit : 9ème heure : $0,700 \pm 0,020$

17ème heure : $0,692 \pm 0,079$

Jour : 3ème heure : $0,516 \pm 0,113$

Les résultats obtenus chez la Souris sont explicités sur la Planche VII.

Chez le Hamster, le taux de charge granulaire des cellules de Paneth varie significativement entre la période d'éclairement et celle d'obscurcissement. C'est au cours de la "nuit" que le taux est le plus élevé ; il s'abaisse graduellement pendant le "jour".

Chez cette espèce nous n'avons pu faire varier les durées d'éclairement. Une telle expérimentation aurait en effet nécessité le sacrifice d'un nombre trop important d'animaux (incompatible avec la production de l'élevage de notre laboratoire).

Chez la Souris il existe également des variations significatives du taux de charge des cellules de Paneth en fonction de l'éclairement. C'est aussi durant la période de "nuit" que le taux de charge est le plus élevé quelles que soient les variations du rythme imposées.

Discussion

Le taux de charge (et donc probablement la sécrétion) des cellules de Paneth semble soumis aux modifications d'éclairement ; la période diurne provoquant une diminution du nombre des grains de zymogène apexiens.

La variabilité du taux est moins importante chez le Hamster. Chez la Souris le rythme 12/12 provoque les effets les plus significatifs.

Nous n'avons pu préciser si les variations observées étaient la conséquence d'une stimulation préférentielle de la synthèse sécrétoire ou de l'excrétion de la cellule de Paneth.

Il est surprenant de constater une élévation du taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez la Souris au milieu de la période diurne, au cours du rythme jour-nuit 18-6.

Une étude plus approfondie pourrait préciser le rôle joué par l'éclairement. En effet les expériences réalisées ne permettent pas de dissocier totalement l'influence de la lumière, d'une contribution éventuelle d'autres facteurs telles que les moeurs (diurnes ou nocturnes), les habitudes de prises alimentaires, etc... Nous pensons donc ultérieurement poursuivre ce travail en étudiant les variations du taux de charge ces cellules,

- au cours de rythmes variables "Jour-Nuit" ne respectant pas une périodicité de 24 heures.

- au cours de phases d'éclairement ou d'obscurité continues.

Cette étude devrait alors être ultérieurement confrontée aux résultats obtenus par d'autres auteurs sur les variations des activités enzymatiques et mitotiques intestinales au cours du nyctémère (SIGDESTAD 1969-1971, CHANG 1971, FURUYA 1971, EDWARDS 1972, SCHEVING 1972, SHEFER 1972, HUGON 1973).

Planche I :

Variations du taux de charge granulaire des cellules de Paneth chez le Hamster,

A. après surrénalectomie

- a : 24 heures après surrenalectomie
- b.: 48 heures après surrénalectomie
- c : 72 heures après surrénalectomie

B. après greffe de la surrénale sur le péritoine

- a : 4 jours après la greffe
- b.: 10 jours après la greffe
- c : 15 jours après la greffe

C. après greffe de la surrénale dans le testicule

D. après injection de glucocorticoïdes

- a : Cortisone (2 mg/kg/j.)
- b.: Cortisol (2 mg/kg/j.)
- c : Bétaméthasone (8 mg/kg/j.)

E. après injection de Désoxycorticostérone (1 mg/kg/j.)

F. après injection de Cortisol à forte dose (20 mg/kg/j.)

Planche II :

Aspect morphologique de la charge granulaire des cellules de Paneth (flèche).

A. chez un animal témoin après 24 heures de jeûne

B. après surrénalectomie

C. après greffe surrénalienne

D. après injection de cortisol.

Coloration de Mallory-Cason (x 500).

Planche III :

Aspect ultrastructural des cellules de Paneth chez le Hamster après surrénalectomie.

Fig. 1 - 24 h après la surrénalectomie.

Fig. 2 - 24 h après la surrénalectomie. pH : phagosome entouré par les dyctyosomes (D) golgiens.

Fig. 3 - 48 h après la surrénalectomie le pôle apical des cellules de Paneth fait hernie à l'intérieur de la lumière de la glande (L).

Fig. 4 - 48 h après la surrénalectomie, les grains occupent la lumière glandulaire (L). Les pôles apicaux des cellules de Paneth après effraction ont un aspect cupuliforme (flèches).

Fig. 5 - 72 h après la surrénalectomie on note une destruction importante du réticulum granulaire (r g) au niveau des cellules de Paneth (P).

Fig. 6 - 72 h après surrénalectomie : aspect hétérogène des grains de sécrétion.

Fig. 7 - 72 h après surrénalectomie : aspect du réticulum granulaire (r g). N : noyau.

Fig. 8 - 4 jours après surrénalectomie : aspect vacuolaire des grains (G). pH : phagosomes ; N : noyau.

PLANCHE IV :

Aspect ultrastructural des cellules de Paneth après greffe de la surrénale chez des Hamsters surrénalectomisés (10 jours après l'intervention).

Fig. 1 - Cellules de Paneth (P) bordant la lumière glandulaire (L).

Fig. 2 - Image d'excrétion mérocrine : la membrane du grain (m) s'accrole (flèche) avec la membrane apexienne (M) de la cellule de Paneth.

Fig. 3 - Maturation granulaire golgienne. D : dictyosomes.

Fig. 4 - Pôle basal de la cellule. r g : réticulum granulaire ; N : noyau.

Les flèches visualisent le contenu des sacs ergastoplasmiques.

Planche V :

Aspect ultrastructural des cellules de Paneth après surrénaléctomie et injection de Cortisol.

Fig. 1 - Aspect des cellules de Paneth (P) bordant la lumière glandulaire (L).

Fig. 2 - L'excrétion des grains (G), de type mérocrine respecte les micro-villosités apicales (mv) bordant la lumière glandulaire (L).

Fig. 3 - La zone golgienne (Go) reste hypertrophique. rg : réticulum granulaire.

Fig. 4 - Aspect du réticulum granulaire (rg) ; les flèches visualisent la sécrétion ergastoplasmique. m : mitochondrie ; N : noyau.

Planche VI :

Variations du taux de charge granulaire des cellules de Paneth.

1 : Animaux témoins

2 : Après thyroïdectomie

3 : Après injection de Thyroxine (0,2 mg/kg)

a : 1/3 inférieur du jéjunum

b : 1/3 médian du jéjunum

c : 1/3 supérieur du jéjunum.

Planche VII :

Variations des taux de charge granulaire des cellules de Paneth au niveau du 1/3 inférieur du jéjunum chez la Souris en fonction de rythmes variables d'éclairement.



PLANCHE 1

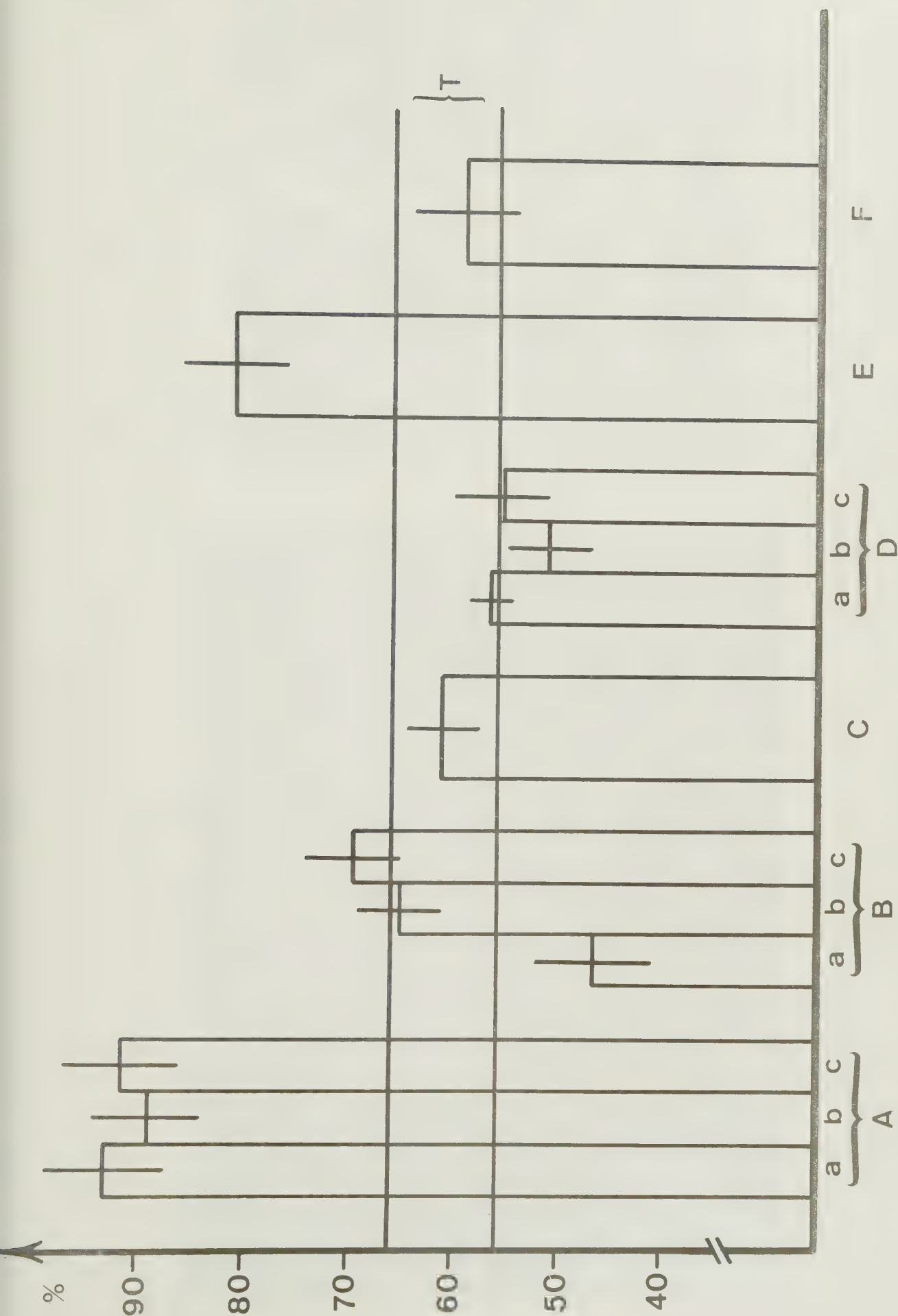




PLANCHE 2 —

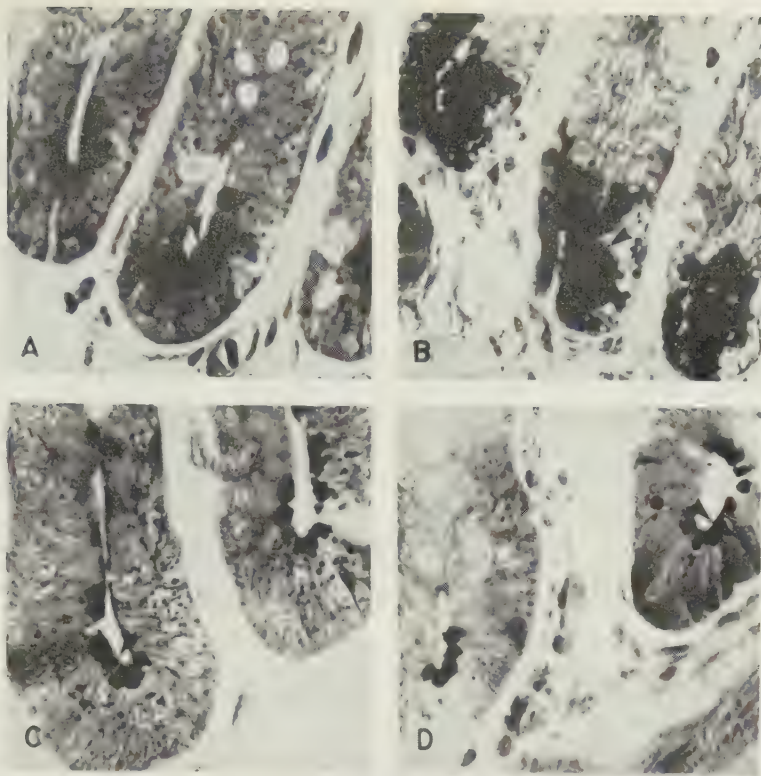
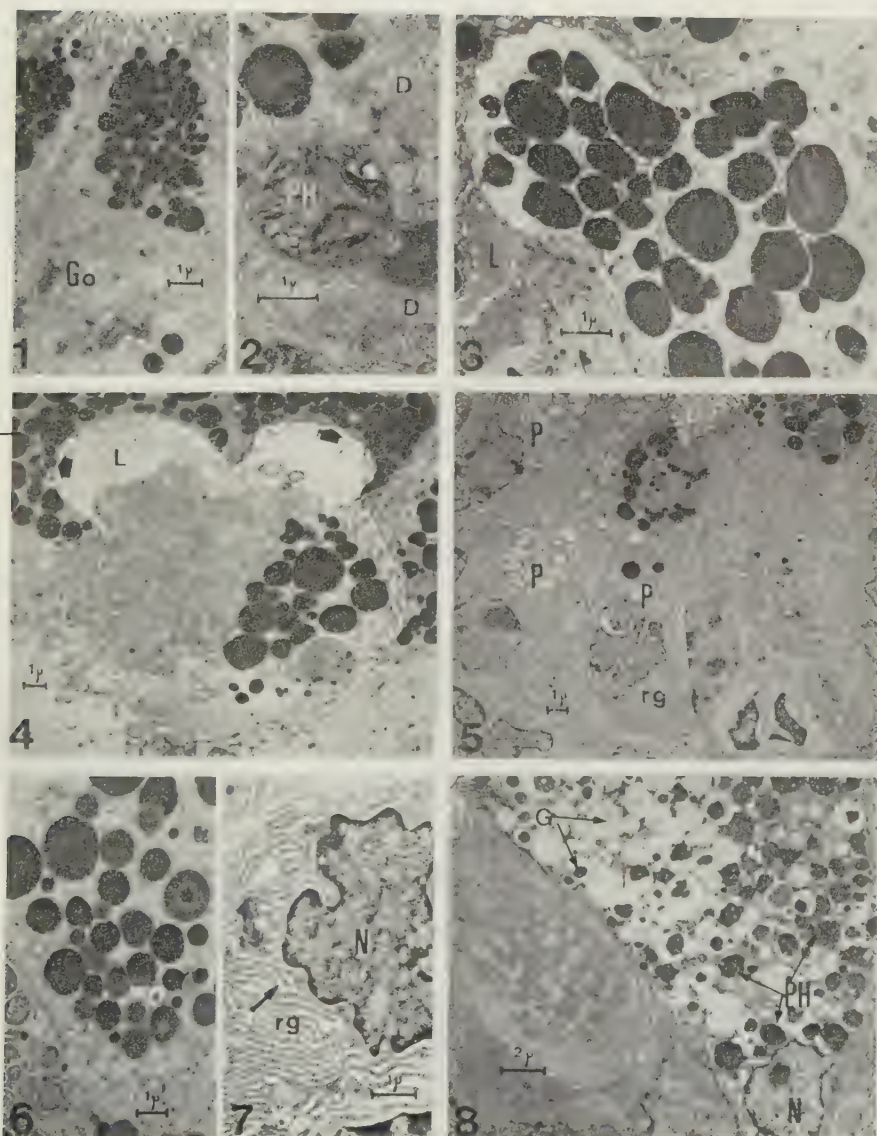
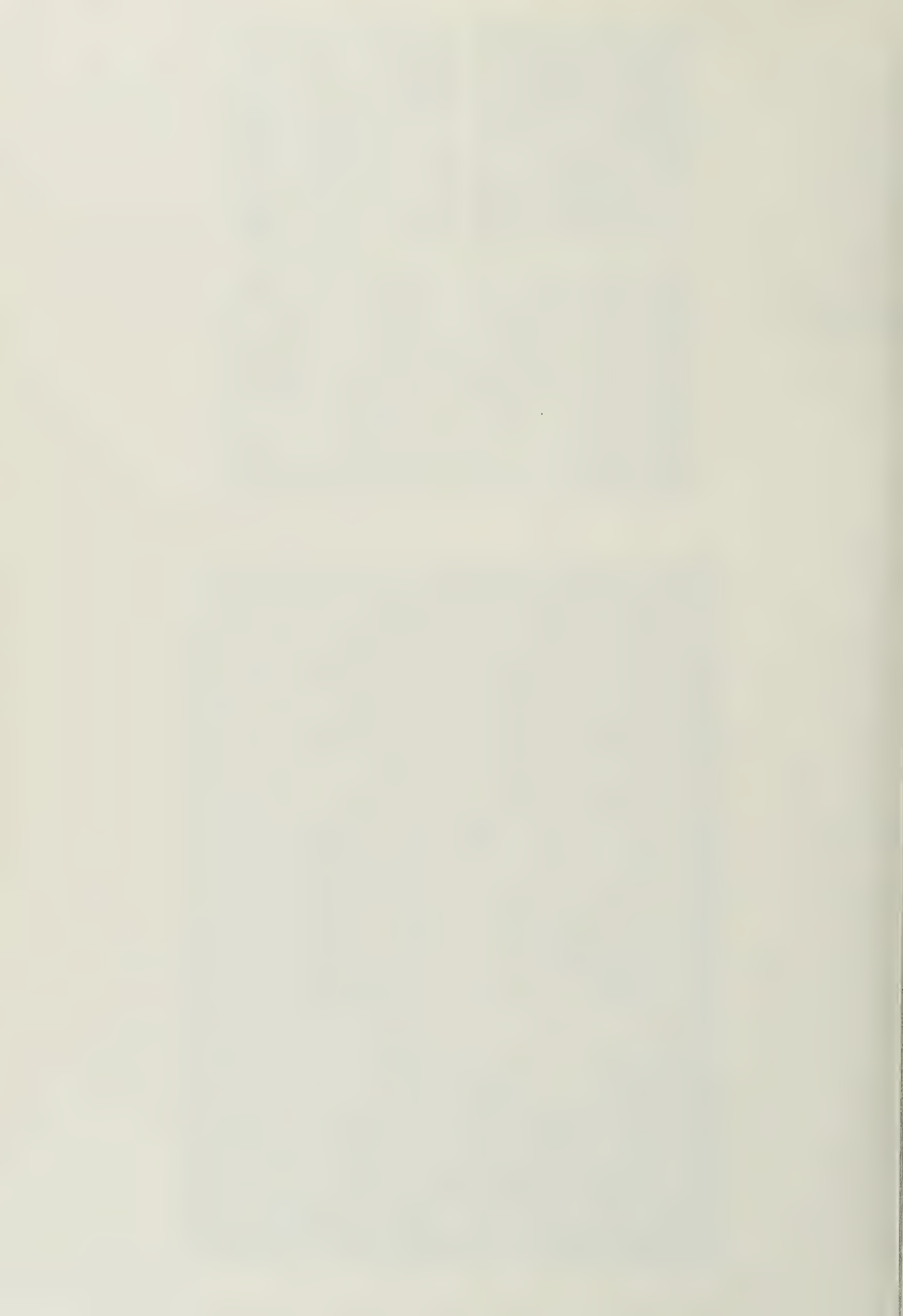


PLANCHE 3 —





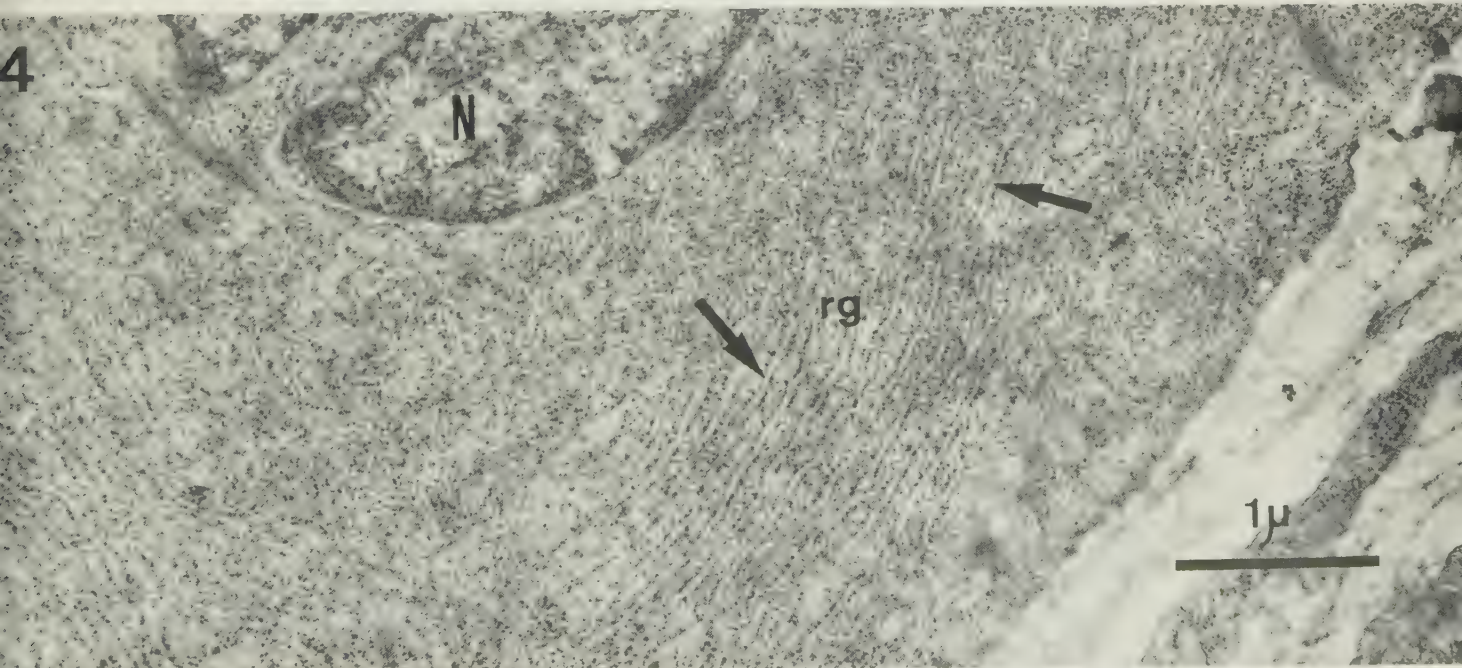
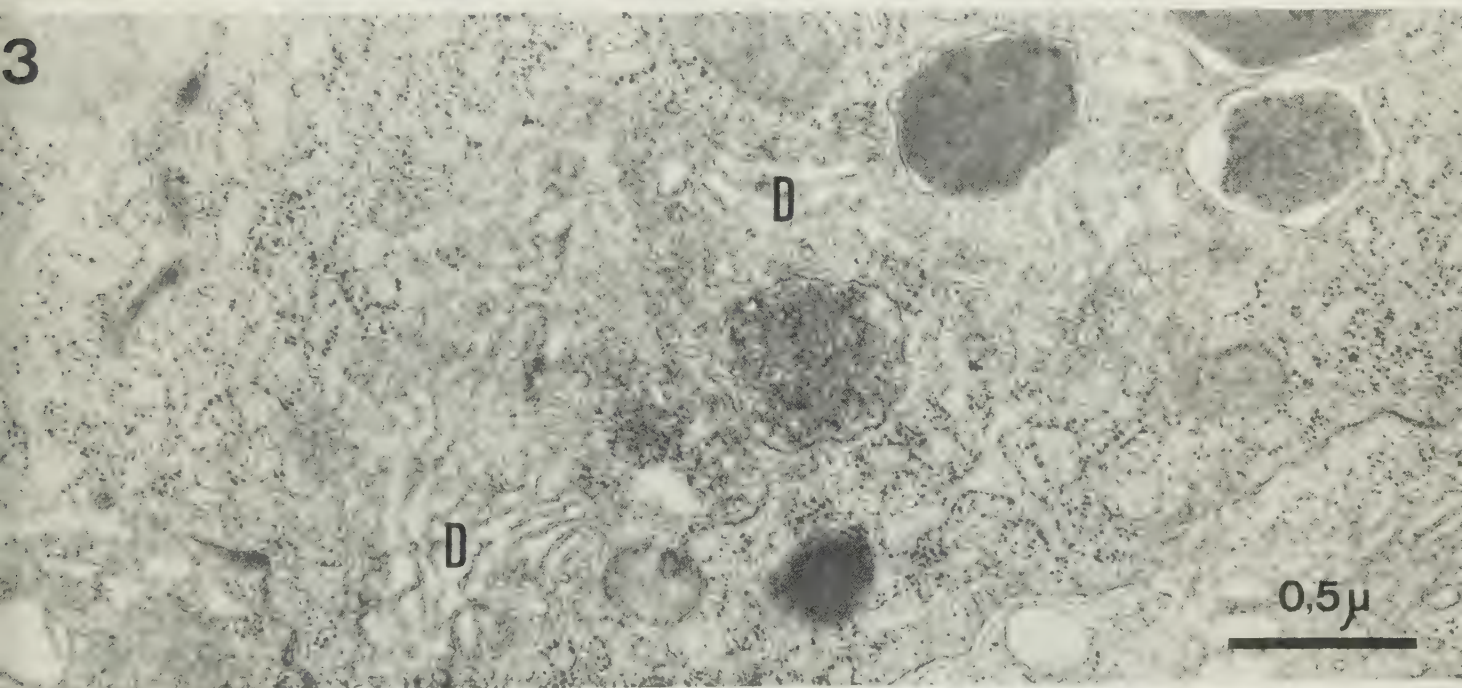
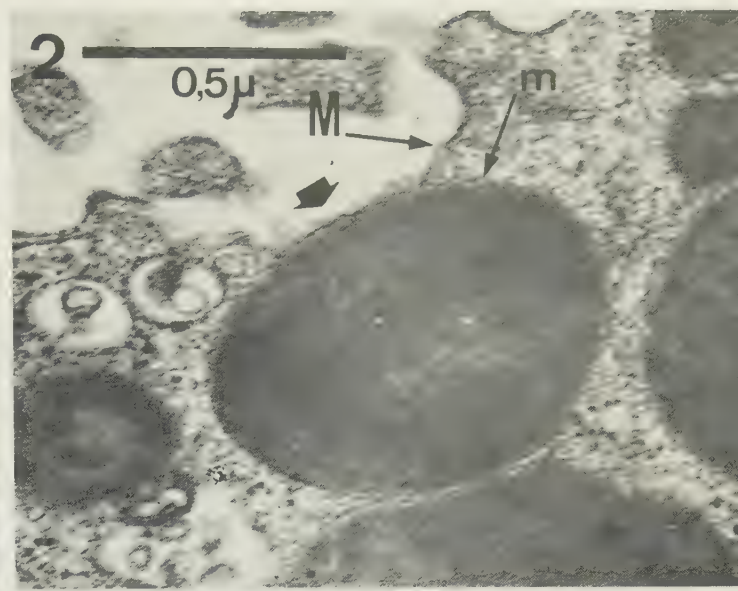
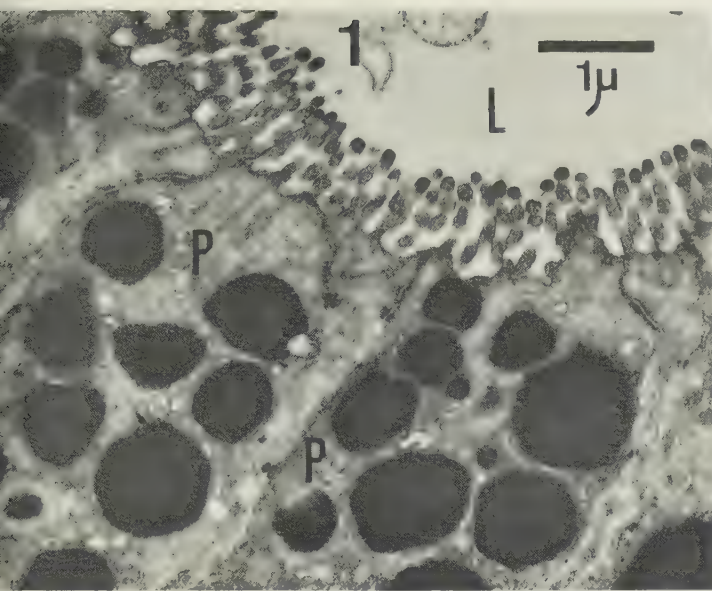


PLANCHE 5

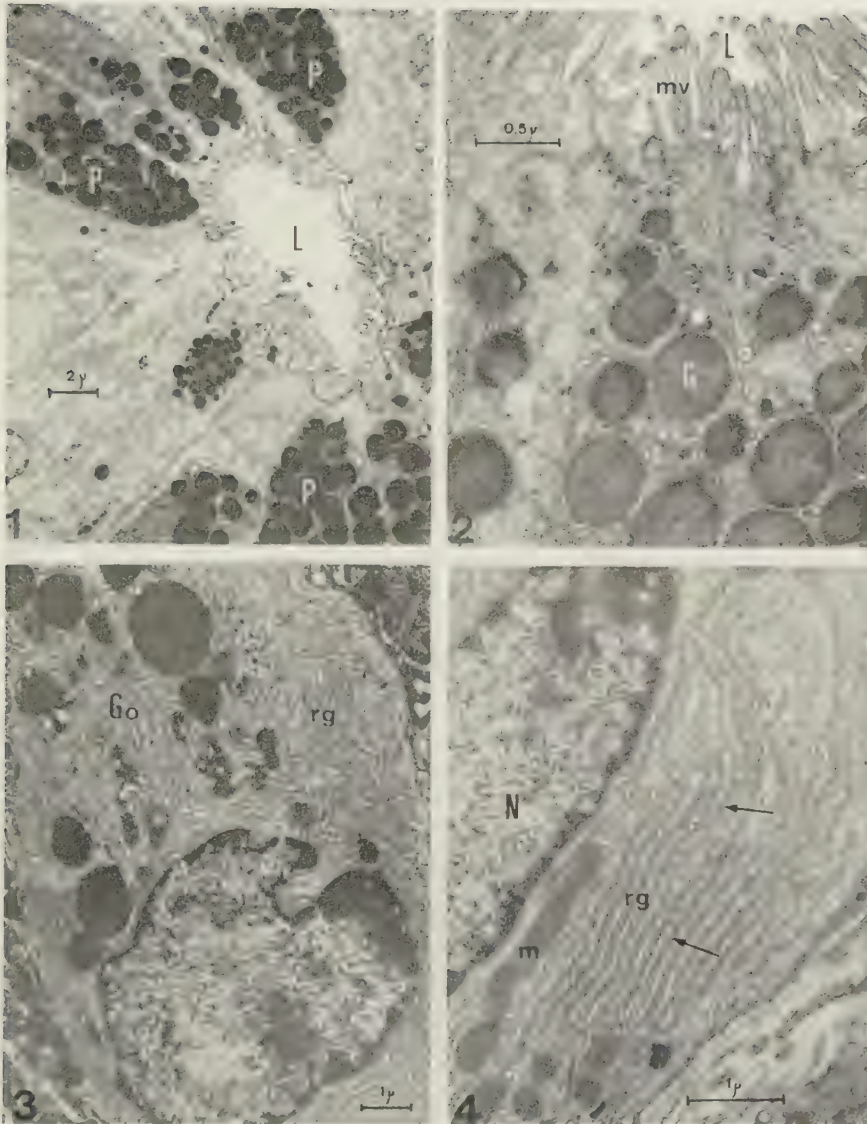




PLANCHE 6

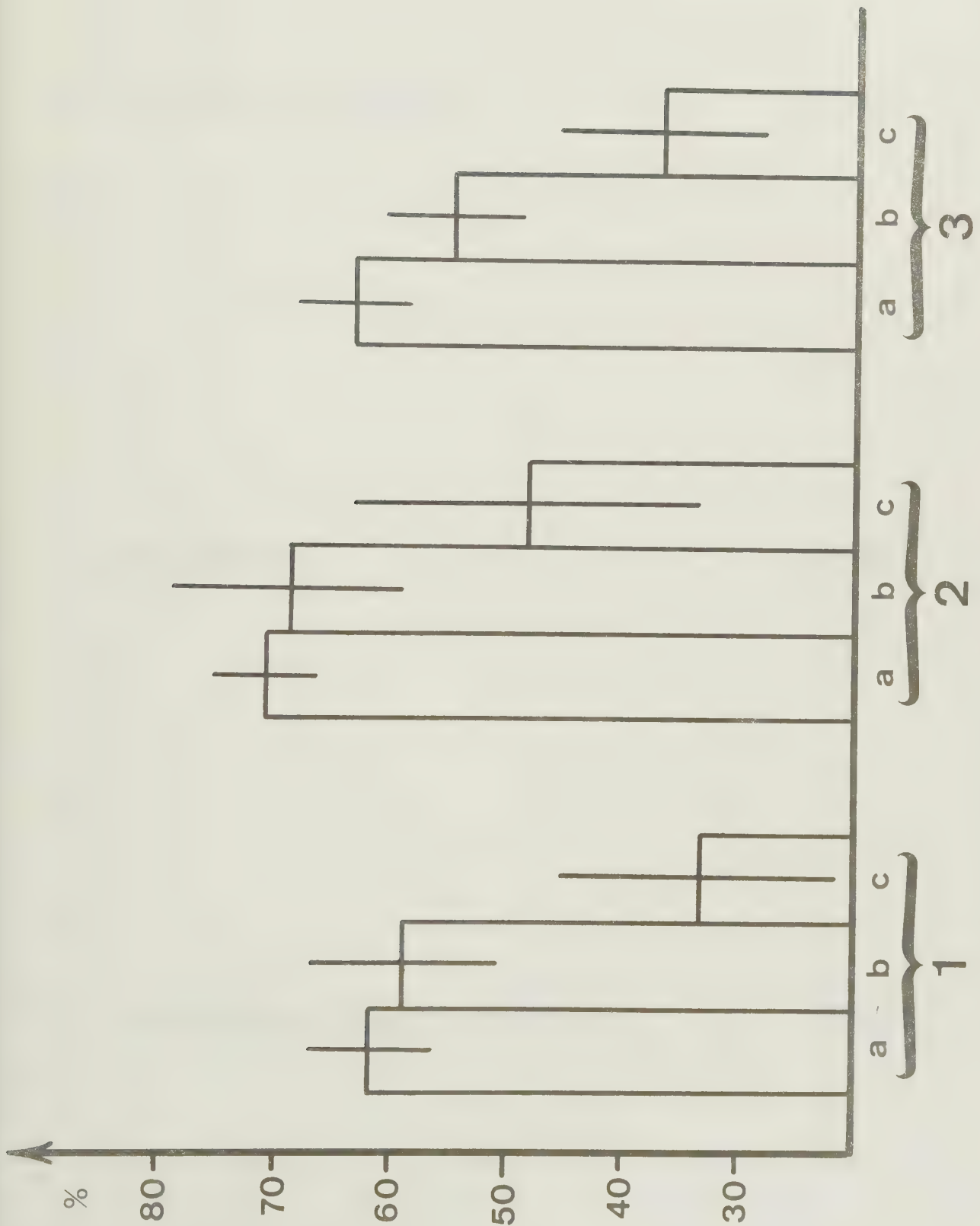
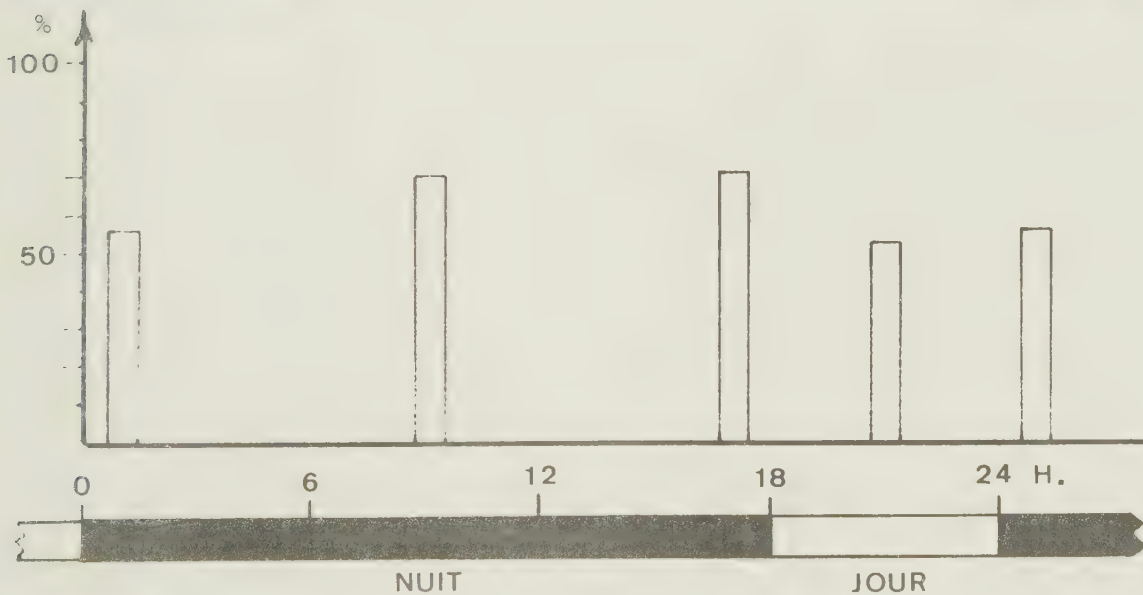
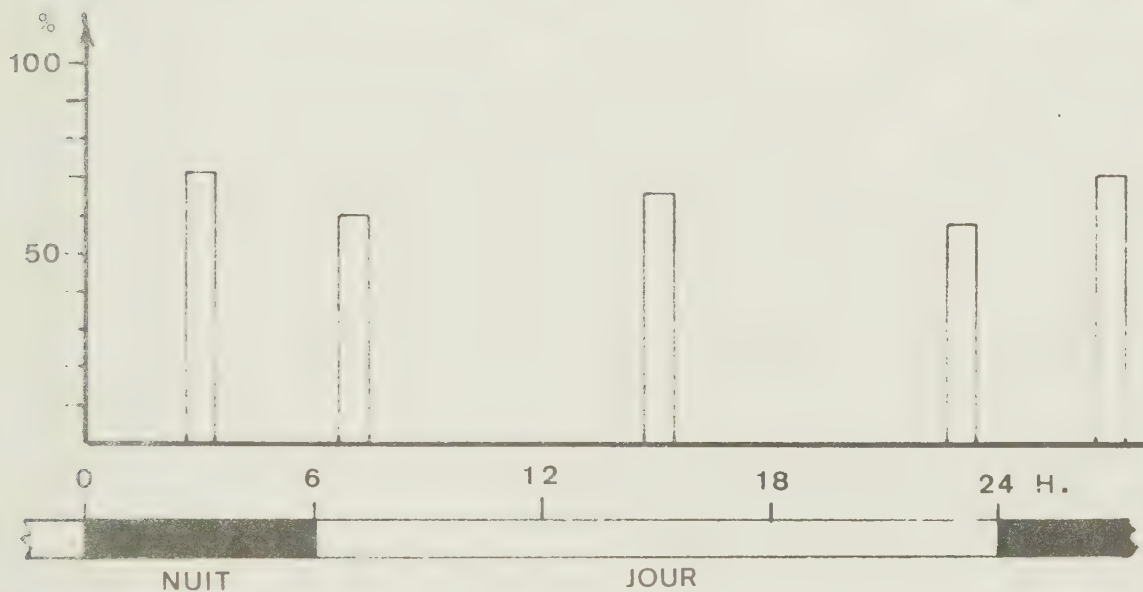
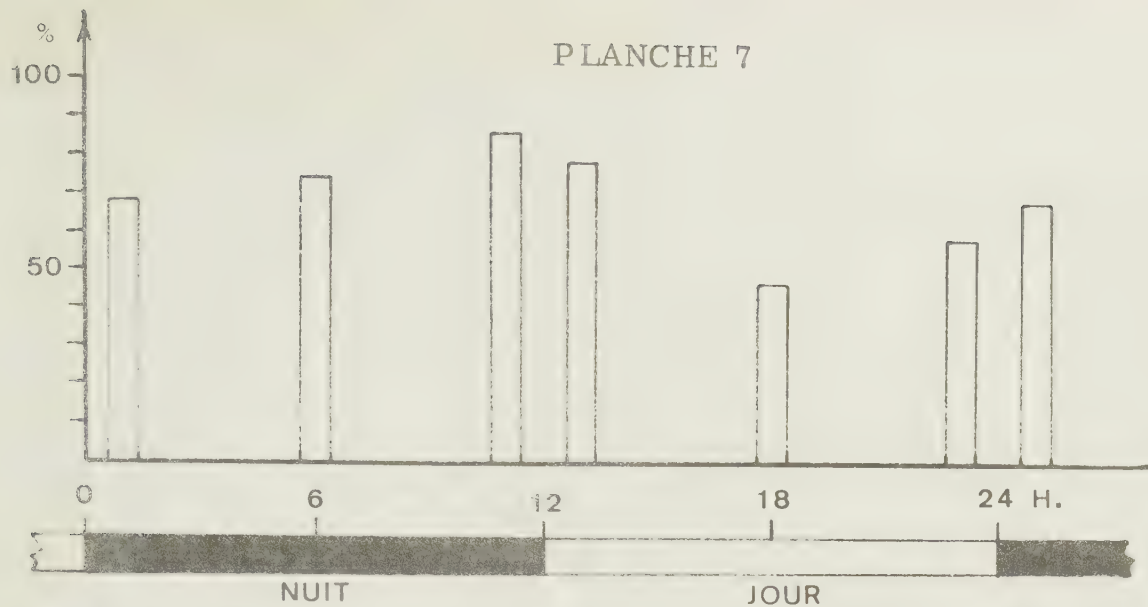




PLANCHE 7



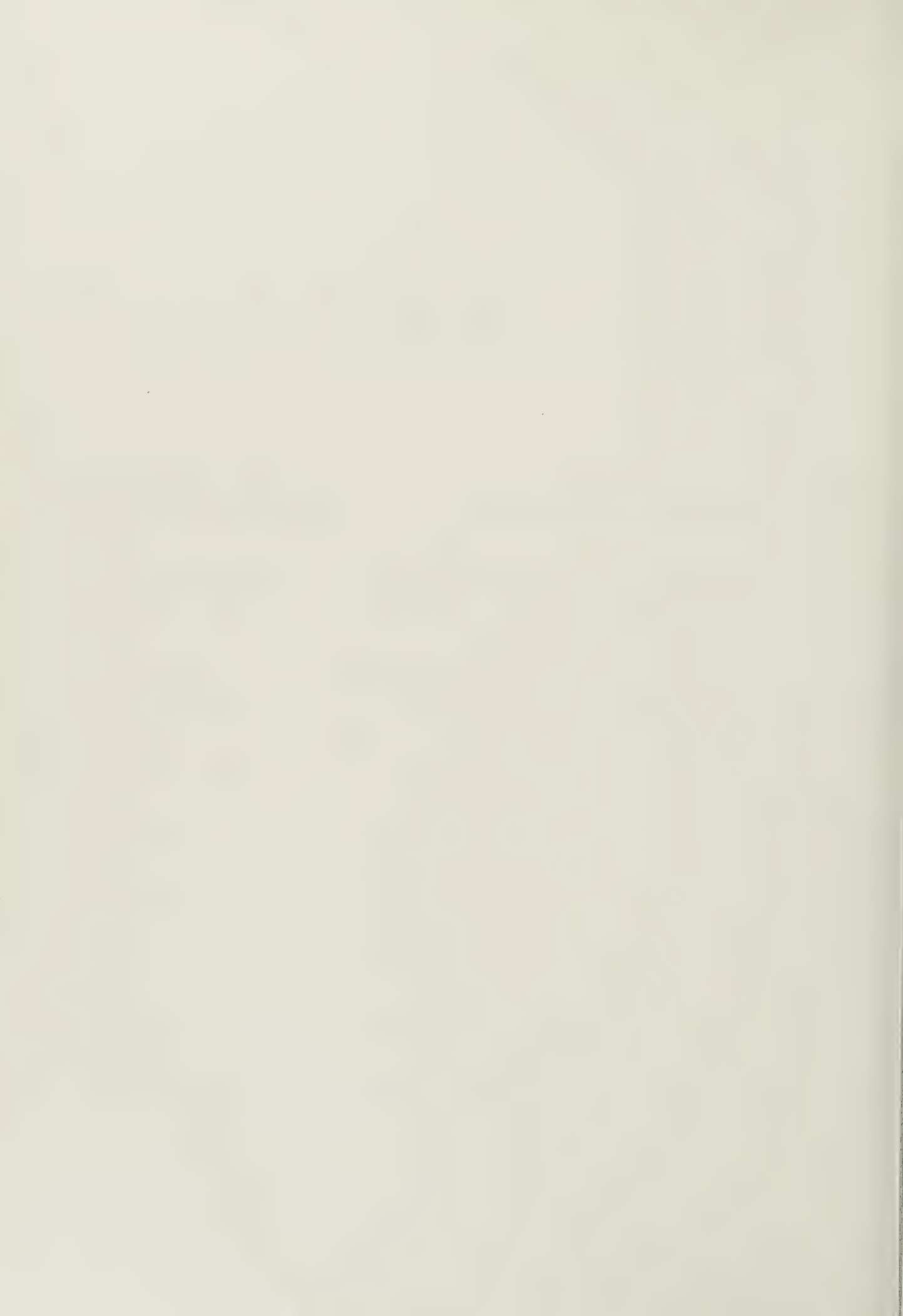


CHAPITRE VI

ETUDE HISTOPHYSIOLOGIQUE DE LA CELLULE DE PANETH :

III

NATURE ET ROLE DU PRODUIT DE SECRETION



I - INTRODUCTION :

Comme nous avons pu le signaler au cours du chapitre I-B de nombreux auteurs ont tenté d'étudier la nature et le rôle exact du contenu zymogénique des cellules de Paneth. Nous résumons brièvement les résultats obtenus car il nous semble possible de regrouper nos connaissances actuelles selon quatre principales orientations.

1°) La sécrétion des cellules de Paneth pourrait jouer un rôle trophique sur l'épithélium de la muqueuse intestinale.

CREAMER (1967) constate que dans les zones où les cellules de Paneth sont rares ou absentes, les cryptes glandulaires sont longues, les villosités peu développées. Au contraire la présence de cellules de Paneth serait corrélativement accompagnée de cryptes courtes mais de villosités longues avec une activité mitotique intense au niveau de la glande de Lieberkühn. Un aspect identique est retrouvé après évaluation de la hauteur des villosités chez les Mammifères possédant des cellules de Paneth et ceux n'en possédant pas. Enfin dans certains cas pathologiques, chez l'Homme, l'absence de cellules de Paneth coïncide avec un aplatissement de la muqueuse et une raréfaction des cryptes glandulaires.

Sur cet ensemble de constatations CREAMER émet une hypothèse surprenante : les cellules de Paneth représenteraient une unité nutritionnelle spécialisée sécrétant dans la lumière intestinale un produit riche en protides

et glucides assurant un milieu trophique optimal dans lequel les glandes de Lieberkühn et les villosités se développeraient plus activement.

Plus récemment, GENT et CREAMER (1972), confirment cette notion et envisagent une sécrétion d'acides aminés libres par la cellule de Paneth. En effet, après stimulation par la pilocarpine, ces auteurs constatent une augmentation immédiate du taux d'acides aminés dans la lumière intestinale.

2°) La cellule de Paneth est impliquée dans la sécrétion des enzymes intestinales.

- le grain de zymogène contiendrait des peptidases (KUROSUMI 1961, BEHNKE et MOE 1964, MOE 1967). Cette activité protéolytique est confirmée par LAUMONIER et METAYER (1967) qui constatent des phénomènes de lyse en périphérie de l'orifice d'abouchement d'une anse intestinale à la peau associés à une hyperplasie des cellules de Paneth.

- La présence de métaux lourds et en particulier de zinc (HALBHUBER et Coll. 1970) est en faveur d'une sécrétion enzymatique par la cellule de Paneth, les métaux lourds pouvant représenter des cofacteurs (en particulier des peptidases).

3°) La cellule de Paneth jouerait un rôle dans les mécanismes de défense et de protection de l'intestin grêle.

a. ERLANDSEN et CHASE (1972) ont montré que la cellule de Paneth était capable de phagocyter des micro-organismes de la flore intestinale. Ces auteurs ont pu observer, à l'intérieur du cytoplasme des cellules de Paneth, le cycle de digestion et de lyse de Flagellés et Spirochètes : formation de phagosomes, transformation en hétérophagolysosomes par fusion avec des vésicules golgiennes, lyse progressive dans des vacuoles digestives, élimination sous forme de corpuscules denses ou de corps résiduels myélinisés.

b. PEETERS et VANTRAPPEN (1974) font la preuve de la sécrétion par les cellules de Paneth du lysozyme intestinal par immunofluorescence. Après préparation d'un antisérum (à partir du lysozyme intestinal extrait de la muqueuse de Souris), ces auteurs ont pu visualiser par histo-immunofluorescence indirecte une positivité de la réaction au niveau des grains de zymogène.

Secondairement, après stimulation et excrétion des cellules de Paneth, la fluorescence spécifique est retrouvée dans la lumière glandulaire.

4°) La cellule de Paneth aurait des potentialités endocriniennes.

AHONEN (1973), sur des critères histochimiques, émet l'hypothèse que la cellule de Paneth est responsable de la sécrétion du V.I.P. (Vasoactive intestinal peptide). Elle serait donc apparentée aux cellules A.P.U.D. de PEARSE (1969).

La fonction de la cellule de Paneth est donc encore mal connue. Or, depuis le début de nos recherches histo-physiologiques nous avons également tenté de préciser la nature et le rôle du contenu zymogénique.

Il est en fait regrettable de constater que les différentes orientations que nous avons prises, n'ont guère permis de progresser en ce domaine particulier.

Toutefois, à l'analyse des différentes expérimentations que nous avons effectuées, il nous semble nécessaire,

- de discuter les hypothèses actuelles concernant la sécrétion des cellules de Paneth,
- d'envisager d'autres fonctions éventuelles dévolues à cet élément cellulaire.

II - CONFRONTATION AVEC NOS RESULTATS :

1°) Cellule de Paneth et rôle trophique sur la muqueuse intestinale.

Bien que séduisante l'hypothèse émise par CREAMER, en 1967, paraît peu argumentée. Le parallélisme entre l'aspect des villosités et la présence des cellules de Paneth au fond des glandes de Lieberkühn ne nous semble pas aussi strict,

- chez la Souris les cellules de Paneth sont nombreuses au niveau du tiers médian du jéjunum ; les villosités sont hautes, grêles et rectilignes. Au contraire, chez le Hamster les cellules de Paneth sont rares, à cet étage ;

les villosités sont cependant particulièrement bien développées. Il en est de même chez le Cobaye,

- chez l'Homme, l'observation de biopies jéjunales nous a effectivement permis de visualiser des atrophies villositaires associées à l'absence ou la raréfaction des cellules de Paneth. Mais ce phénomène n'est pas constant et nous avons tout aussi fréquemment observé des atrophies villositaires avec présence des cellules de Paneth, parfois même avec hyperplasie de cet élément cellulaire. Il nous semble d'ailleurs prématuré d'établir des cadres lésionnels où la cellule de Paneth interviendrait ou participerait.

La sécrétion d'acides aminés libres (GENT et CREAMER 1972) est également discutable,

- le grain de zymogène des cellules de Paneth est constitué pour sa fraction la plus importante par des protides (cf. chapitre III-c). En outre, la réaction du Biuret est positive : il s'agit d'une réaction caractéristique de la liaison peptidique.

- il serait surprenant que la sécrétion soit constituée d'acides aminés libres. La cellule de Paneth (cf. chapitre III A et B) est en effet typiquement séreuse ; elle possède un réticulum granulaire et un appareil de Golgi très développés. Elle est donc adaptée à la synthèse de protéines excrétées.

Il nous semble cependant possible d'envisager une hypothèse expliquant l'augmentation, observée par GENT et CREAMER, du taux d'acides aminés libres dans le suc intestinal après stimulation de la cellule de Paneth. Ces auteurs ont en effet utilisé des doses très élevées de chlorhydrate de Pilocarpine (50 mg/kg).

Dans ces conditions (cf. chapitre IV-J) l'excrétion des cellules de Paneth est brutale et ne s'effectue plus selon le mode mérocrine. Le pôle apical est effracté, une partie du cytoplasme, parfois même la totalité du contenu cellulaire, sont expulsés dans la lumière de la glande de Lieberkühn. La présence d'acides aminés libres déversés dans la lumière intestinale est alors concevable. Mais il nous paraît moins certain que la cellule de Paneth puisse sécréter des acides aminés libres si des conditions de stimulation plus physiologiques sont respectées.

2°) Cellules de Paneth et enzymes intestinales

Plusieurs auteurs (KUROSUMI 1961, BEHNKE et MOE 1964, MOE 1967) ont pu visualiser une activité peptidasique au niveau des grains de zymogène des cellules de Paneth. Nous avons nous même pratiqué la technique de NACHLASS 1960 (in GABE 1968, p. 638).

Nous n'avons jamais observé une positivité de la réaction au niveau de la cellule de Paneth - La réaction est par contre positive au niveau du pancréas et sub-positive au niveau du plateau strié des entérocytes.

Nous sommes ainsi en accord avec LEWIN (1969) qui n'a pas remarqué d'activité peptidasique au niveau des cellules de Paneth.

Par contre nous avons retrouvé la présence de zinc dans le tiers médian et supérieur de la cellule de Paneth (cf. chapitre III-C). La présence de métaux lourds (HALBHUBER et Coll. 1970) et en particulier de Zinc (BEHNKE et MOE 1964, MERZEL 1967) avait déjà antérieurement été observée.

Nous avons également, sans succès, recherché une éventuelle activité lipasique par la réaction de GOMORI (in GABE 1968, p. 632).

Ainsi la cellule de Paneth, typiquement séreuse, possédant un mécanisme de régulation sécrétoire souvent similaire à la cellule acineuse pancréatique, semble (du moins en histo-enzymologie) dépourvue d'enzymes hydrolytiques impliquées dans la digestion intestinale.

Il est vrai que classiquement il est acquis que les enzymes intestinales sont intra-cellulaires ; plus exactement fixées sur le revêtement externe des micro-villosités de l'entérocyte. Seules deux enzymes seraient sécrétées dans le suc intestinal : l'entérokinase et une α -amylase.

Il est peu probable que la cellule de Paneth puisse être responsable de la sécrétion d'entérokinase. En effet l'entérokinase, activatrice du trypsinogène est surtout présente dans le duodénum ; sa concentration décroît dans le jéjunum et l'iléon (LOUVARD 1973).

Or la répartition des cellules de Paneth est inverse ; les cellules de Paneth sont généralement plus nombreuses dans la zone jéjuno-iléale (cf. chapitre III-A).

Nous avons également tenté de préciser par l'histo-enzymologie la localisation de la sécrétion α -amylasique au niveau de la muqueuse jéjuno-iléale chez différentes espèces animales. Nous avons pour cela utilisé la technique mise au point par SMITH (1973).

L'étude a été comparativement réalisée au niveau de la glande parotide.

Sur des pièces fraîches, coupées au cryostat, nous n'avons pas noté d'activité amylasique importante au niveau de la muqueuse intestinale. Par contre, sur des pièces prélevées 5 à 15 minutes après stimulation par la Prostigmine ($1 \cdot 10^{-2}$ mg/kg en intra-péritonéale), la réaction est fortement positive mais diffuse, recouvrant la totalité de la muqueuse. Il nous a donc été impossible de localiser ainsi la sécrétion amylasique. Nous essayons actuellement d'affiner la valeur topographique de la réaction,

- en utilisant des coupes obtenues après lyophilisation du prélèvement et inclusion dans l'Araldite (l'animal étant sacrifié immédiatement après stimulation par la Prostigmine),

- en "piégeant" le substrat (l'Amidon soluble) dans un film constitué par un gel de Polyacrylamide à maille très fine.

Dans ces conditions expérimentales, il semble possible de limiter la diffusion de l'enzyme,

- au moment du prélèvement et de la coupe ; phénomène, inévitable en utilisant les techniques de congélation,

- au moment de l'incubation des lames.

Chez la Souris, nous avons ainsi pu augmenter la précision topographique de la réaction : l'activité α -amylasique est maximale au niveau des glandes de Lieberkühn. Mais il nous est cependant impossible d'affirmer

si l'activité est spécifiquement localisée au niveau du produit de sécrétion des cellules de Paneth. Nous espérons pouvoir encore améliorer la valeur localisatrice de la technique.

Toutefois il nous semblerait logique d'admettre que la cellule de Paneth soit responsable de la sécrétion de l'amylase intestinale malgré les imprécisions de l'histo-enzymologie. En effet certains éléments viennent corroborer une telle hypothèse.

a. Il existe un parallélisme remarquable entre l'activité α -amylasique du suc intestinal et l'aspect morphologique des cellules de Paneth.

- L'hypertrophie et l'hyperplasie des cellules de Paneth, après ligature des canaux pancréatiques, s'accompagne d'une élévation de l'activité amylasique du suc intestinal (D. BALAS et Coll., Pancréatic Club, VIIème Réunion, DUNDEE juillet 1974 - à paraître dans Digestion).

- Des études biochimiques et physiologiques réalisées actuellement par d'autres membres de l'équipe (F. SENEGAS, L. PRADAYROL et J. LAVAL) montrent que les variations de l'activité amylasique du suc intestinal sont concomitantes des modifications du cycle sécrétoire de la cellule de Paneth (cf. chapitre IV - F) après stimulation par la Pancréozyimine ou la Caéruléine (J. LAVAL et Coll : Etude biochimique de l'amylase intestinale ; F. SENEGAS et Coll. : Influence des hormones gastro-intestinales sur l'activité amylasique du suc intestinal ; communications soumises à acceptation pour le Forum de Gastro-Entérologie - Créteil - Décembre 1974).

b. Il est surprenant de constater que le coefficient d'utilisation des glucides n'est que faiblement perturbé après ligature des canaux pancréatiques (J. CATHALA - 1972).

Nous devons enfin signaler un phénomène particulier que nous avons pu fortuitement visualiser en réalisant des études cinétiques de la réaction amylasique sur la muqueuse intestinale. 45 minutes après le début de l'incubation, c'est-à-dire à un stade où la totalité de l'Amidon a pu être hydrolysée, nous avons pu observer au niveau du pôle apical des cellules de Paneth (et du produit de sécrétion) la synthèse de muco-substances neutres. (APS posi-

tivité et coloration bleu-violacée par l'Iode).

Le phénomène (qui n'a jamais été observé au niveau du pancréas ou de la glande salivaire) est cinétique dans le temps maximal 60 à 75 minutes après le début de l'incubation ; il disparaît si la coupe est préalablement dénaturée par ébullition. Il s'agit donc d'une activité enzymatique pouvant évoquer la présence de synthétases, phosphorylases ou transférases.

Pour vérifier une telle hypothèse nous avons pratiqué, chez la Souris, les réactions de mise en évidence histo-enzymologique des transférases du glucose et en particulier de l'activité phosphorylasique (TAKEUCHI et KURIAKI 1955, LINDBERG et PALKANA 1972) Après stimulation par la Prostigmine, les réactions sont positives au niveau de l'apex et du produit de sécrétion des cellules de Paneth (fig. 1 a et b).

Le glucose 1P est transformé en poly-saccharides en présence d'A.T.P...

La réaction est également positive après incubation (mais moins fortement) en utilisant comme substrat le glucose ou le glucose-6P..

Le pôle apical des cellules de Paneth contiendrait donc des enzymes de phosphorylation qui pourraient être excrétées dans la lumière.

La positivité de la réaction après hydrolyse de l'Amidon ou en présence de glucose et de glucose-6P implique la présence (dans la cellule de Paneth ou dans le milieu environnant ?) d'autres enzymes de phosphorylation du type hexokinase et glucose-6-phosphatase.

3°) Cellule de Paneth - rôle dans les mécanismes de défense.

GHOOS et VANTRAPPEN (1971), PEETERS et VANTRAPPEN (1974) ont mis en évidence la sécrétion du lysozyme intestinal par la cellule de Paneth. Cet élément cellulaire joue donc un rôle dans les mécanismes de régulation de la flore intestinale. Les travaux d'ERLANDSEN et CHASE (1972) chez le Rat apportent une confirmation ; la cellule de Paneth étant capable de phagocyter et digérer des micro-organismes fréquemment retrouvés dans l'intestin des Rongeurs.

Il est cependant surprenant d'envisager une fonction phagocytaire pour une cellule typiquement sécrétrice.

Toutefois, chez le Hamster et la Souris, nous avons également observé des images d'hétérophagosome et de lyse de micro-organismes au sein du cytoplasme des cellules de Paneth (figure 2a et c, figure 9 chapitre III-B). Les hétéro-cytophagosomes peuvent être de petite taille (fig. 9 chapitre III-B) mais peuvent également confluer pour former de volumineuses vacuoles digestives qui occupent alors une large zone du tiers médian de la cellule (fig. 2a), refoulant parfois le noyau.

Au sein des vacuoles de digestion la structure des parasites est plus ou moins reconnaissable selon le degré de digestion. La lyse aboutit progressivement à la formation de corps myéliniques (fig. 9 chapitre III-B). Il est d'ailleurs possible de suivre au sein des différents phagosomes les étapes intermédiaires de transformation (fig. 2a).

Nous avons également noté la présence de corpuscules denses (fig. 2a) qui représenteraient, pour ERLANDSEN et CHASE, la forme d'élimination après phagocytose et digestion intra-cellulaire. Exceptionnellement, nous avons pu remarquer des images de fusion d'un grain de zymogène immature avec un lysosome secondaire hétérophagique. Le phénomène semble plus fréquent après surrénalectomie (fig. 2b).

Chez le Hamster nous n'avons observé que la phagocytose de micro-organismes spiralés (*Spirochètes*) ; chez la Souris nous avons également visualisé celle de Flagellés (fig. 2c).

A notre connaissance la cellule de Paneth est donc la seule cellule séreuse (probablement même la seule cellule sécrétrice) possédant une potentialité phagocytaire. S'agit-il d'une fonction constante ou consécutive à un processus pathologique ? ERLANDSEN et CHASE ont montré le rôle phagocytaire chez le Rat, nous retrouvons une fonction similaire chez deux autres espèces de Rongeurs, le Hamster et la Souris. D'autre part, tous les auteurs ayant étudié la cellule de Paneth en microscopie électronique ont pu observer des images lysosomiales et la présence constante de corps myéliniques au niveau du tiers médian et inférieur de la cellule (HALLY 1958 chez la Souris, TRIER

1963 chez l'Homme, BENHKE et MOE 1964 chez le Rat, PITHA 1968 chez le Lapin). Ces images lysosomiales semblent correspondre à des hétéro-phagosomes où le degré de lyse des micro-organismes est variable (les photographies publiées par HALLY et PITHA sont sur ce point très fortement évocatrices).

Il faut donc admettre que la cellule de Paneth possède une fonction phagocytaire et macrophagique associée à son rôle sécrétoire.

Un point reste cependant à élucider. Le pôle apical de la cellule de Paneth est généralement rempli par de nombreux grains de zymogène adjacents les uns aux autres, simplement séparés par de minces travées cytoplasmiques (cf. chapitre III-B). Les hétéro-cytophagolysosomes sont uniquement observés au niveau du 1/3 médian de la cellule et à proximité de la zone golgienne. Ni ERLANDSEN et CHASE, ni nous-mêmes, n'avons pu visualiser le mécanisme de "capture" des parasites au niveau de la membrane apexienne ou leur migration vers la zone golgienne. Il semble d'ailleurs difficile de concevoir un mécanisme de phagocytose s'effectuant lorsque la charge granulaire apexienne est importante. Or, chez l'animal à jeun, les micro-organismes sont parfois présents dans le cul de sac luminal de la glande de Lieberkühn ; mais ils ne pénètrent jamais dans l'apex cellulaire. La plupart des lysosomes secondaires observés sont représentés par des corpuscules denses ou des corps myéliniques, images qui évoquent une étape tardive dans le processus de lyse. Au contraire les images précoces d'hétérophagosome sont plus fréquemment observées chez les animaux non soumis à une période de jeûne préalable et dans l'heure qui suit la réalimentation (cf. chapitre IV-B). Il est donc probable que le rôle phagocytaire ne puisse apparaître que si la cellule de Paneth a préalablement excrété dans la lumière glandulaire son contenu zymogénique. La capture macrophagique des parasites semble dès lors possible. En effet, en fin d'exocytose, le pôle apical des cellules de Paneth est déprimé ; la membrane apexienne, dessine une convexité et atteint l'étage golgien (cf. chapitre IV-A et B). L'excrétion zymogénique provoque ainsi la formation d'un "puits" (fig. 2d) dans l'apex cellulaire où les micro-organismes peuvent pénétrer et atteindre le tiers médian de la cellule. Secondairement les mécanismes de restitution membranaires doivent permettre non seulement de phagocyter la membrane apexienne ("smooth vesicles" transférées vers l'appareil de Golgi et les vacuoles de condensation ; cf. chapitre III-B et IV-B) mais éventuellement entourer des micro-organismes pour constituer un phagosome.

Nous n'avons pu préciser les mécanismes d'élimination des lysosomes secondaires après lyse de leur contenu. Toutefois ils sont, au moins en partie, excrétés par l'apex cellulaire puisque nous avons fréquemment rencontré des corps myéliniques dans la lumière glandulaire à proximité de l'apex des cellules de Paneth (fig. 2e).

4°) Cellule de Paneth et sécrétion du V.I.P.

AHONEN (1973) constate que les grains de zymogène des cellules de Paneth peuvent être visualisés par fluorescence induite à l'orthophtaldéhyde (OPTIF +), caractérisant l'histidine et l'arginine.

Or le VIP est également OPTIF + (HAKANSON 1972).

Bien que séduisante, l'hypothèse de AHONEN paraît peu argumentée et nécessiterait des preuves supplémentaires (en particulier une positivité des granules en histo-immunofluorescence après utilisation d'un antiserum spécifique).

III - HYPOTHESES ET CONCLUSIONS :

Parmi les différentes hypothèses actuellement émises sur le rôle des cellules de Paneth, deux nous semblent devoir être retenues :

- l'excrétion d'enzymes intestinales
- la contribution aux processus de défense de l'intestin grêle.

Les deux mécanismes sont probablement liés ; en effet :

- le lysozyme est excrété dans la lumière glandulaire et contribue à la bactériostase intestinale
- la phagocytose de micro-organismes par la cellule de Paneth ne peut survenir qu'après l'excrétion zymogénique.

La phagocytose doit donc être considérée comme un mécanisme constant mais accessoire dans les fonctions dévolues à la cellule de Paneth. Ce processus de défense pourrait cependant expliquer les images morphologiques observées après ablation des glandes surrénales (cf. chapitre V). Après surréna-

lectomie, le contenu protidique du grain de zymogène décroît (donc également le taux de lysozyme excrété). En outre, en l'absence de catécholamines, l'exocytose des grains de zymogène est accélérée. Il s'agit donc de conditions devant favoriser la phagocytose (accroissement de la prolifération des micro-organismes par diminution de la bactériostase intra-luminale consécutive à la chute de la quantité de lysozyme excrété ; multiplication des effondrements intra-apexiens où peuvent pénétrer les micro-organismes). Le mécanisme phagocytaire dépasserait alors les capacités fonctionnelles de la cellule de Paneth, aboutissant à l'accumulation de phagosomes à l'intérieur du cytoplasme (3 jours après surrénalectomie ; cf. chapitre V) et plus tardivement, à la nécrose cellulaire.

Toutefois nous pensons que la fonction essentielle de la cellule de Paneth reste la sécrétion d'enzymes impliqués dans la digestion intestinale.

Certes, seul le lysozyme a pu être caractérisé à l'intérieur du grain de zymogène. Mais de nombreuses preuves indirectes plaident en faveur de la sécrétion d'autres enzymes et suggèrent que l'ensemble des cellules de Paneth représente une glande intestinale diffuse ayant des analogies avec le Pancréas exocrine :

- la régulation de la sécrétion présente des similitudes avec celle du Pancréas (cf. chapitre IV)

- la ligature des canaux pancréatiques provoque l'hypertrophie et l'hyperplasie des cellules de Paneth

- l'activité amylasique est plus importante dans la zone glandulaire de la muqueuse

- la lyse des micro-organismes phagocytés est associée à la fusion de grains de zymogène immatures avec les phagosomes (fig. 2b). Or la digestion dans le phagosome est totale ; la présence unique du lysozyme ne pourrait aboutir à une telle lyse qui ne peut s'expliquer que par la présence d'enzymes hydrolasiques multiples dans les grains de zymogène (Si toutefois les grains immatures fusionnant avec les phagosomes sont de même nature que les vacuoles de condensation golgiennes à l'origine du grain de sécrétion mûr).

Nous sommes donc en présence d'un paradoxe histophysiologique : les fonds de glandes de Lieberkühn de l'intestin grêle sont constitués par les cellules de Paneth, cellules particulièrement adaptées à la sécrétion d'enzymes dans la lumière intestinale. Or, biochimiquement le suc intestinal est pauvre en activités enzymatiques ; les enzymes de la digestion intestinale sont en effet uniquement localisées au niveau des entérocytes.

Il est toutefois surprenant de constater que les enzymes de la digestion intestinale (diholosidases, peptidases, nucléotidases, nucléosidases...) ne sont pas réellement intra-cellulaires mais fixées sur le revêtement externe des micro-villosités de l'entérocyte (au niveau du glyco-calix).

En outre, à l'exception de la phosphatase alcaline (HUGON 1966-1973), il n'existe pas de preuves formelles prouvant que la totalité des enzymes du glyco-calix soit synthétisée et sécrétée par l'entérocyte (dont l'équipement cellulaire est mal adapté à la synthèse protidique : le réticulum granulaire est peu abondant).

Nous serions enclin à émettre une hypothèse originale, pouvant servir de base de recherche pour un travail futur ; la cellule de Paneth, pourrait sécréter des enzymes, ou des précurseurs d'enzymes, qui seraient secondairement activés après fixation sur le glyco-calix des entérocytes à la sortie de la glande de Lieberkuhn (une telle hypothèse expliquerait la présence de transférases dans le grain de zymogène des cellules de Paneth. Ces enzymes sont en effet impliquées dans la synthèse des copules glucidiques des glycoprotéines enzymatiques de la bordure en brosse).

Nous ne pensons pas que les techniques histo-enzymologique permettent de mieux caractériser la nature exacte du contenu zymogénique (imprécisions topographiques, spécificité et sensibilité insuffisantes ; "protection" éventuelle du grain, inaccessibilité aux substrats).

Par contre, l'isolement des grains de zymogène par les techniques biochimiques, étude actuellement entreprise dans l'équipe par L. PRADAYROL, semble représenter la méthode la mieux adaptée pour progresser dans ce domaine.

Figure 1 :

Mise en évidence d'une activité phosphorylasique après stimulation de la cellule de Paneth (Prostigmine intra-péritonéale : 1.10^{-2} mg/kg).

1a : 5 minutes après stimulation l'activité est retrouvée dans le produit de sécrétion au sein de la lumière de la glande (L) . x 500.

1b : 15 minutes après stimulation et exocytose des grains de zymogène, l'activité est intense au niveau du 1/3 médian et apexien des cellules . x 250.

Figure 2 :

2a : Un volumineux phagosome (PH) contient de nombreux micro-organismes (Spirochètes). Il est encore possible de reconnaître la structure de certains parasites phagocytés (S1) ; d'autres sont en voie de lyse (S2) ou même totalement désorganisés (S3). A un stade plus avancé les processus de lyse aboutissent à la formation de lysosomes secondaires myelinisés (L2) ou de corpuscules denses (C.D).

2b : Fusion d'une vacuole de condensation (VC) avec un hétérophagosome (PH).

2c : Micro-organisme (Flagellé d'après les descriptions de ERLANDSEN et CHASE) au sein d'une cellule de Paneth chez la Souris.

2d : Coupe transversale de l'apex d'une cellule de Paneth 30 minutes après réalimentation. Le cul de sac creusé dans l'axe de la cellule par le mécanisme d'exocytose (*) doit rendre possible la pénétration des micro-organismes parasitant la lumière des glandes de Lieberkühn.

2e : Corps myélinique dans la lumière glandulaire.

FIGURE 1

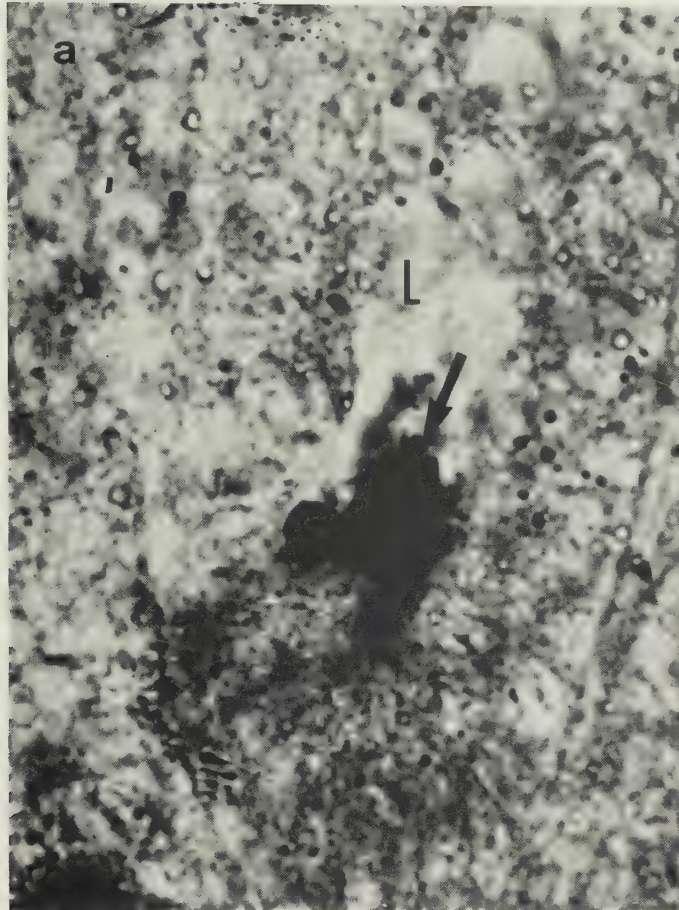
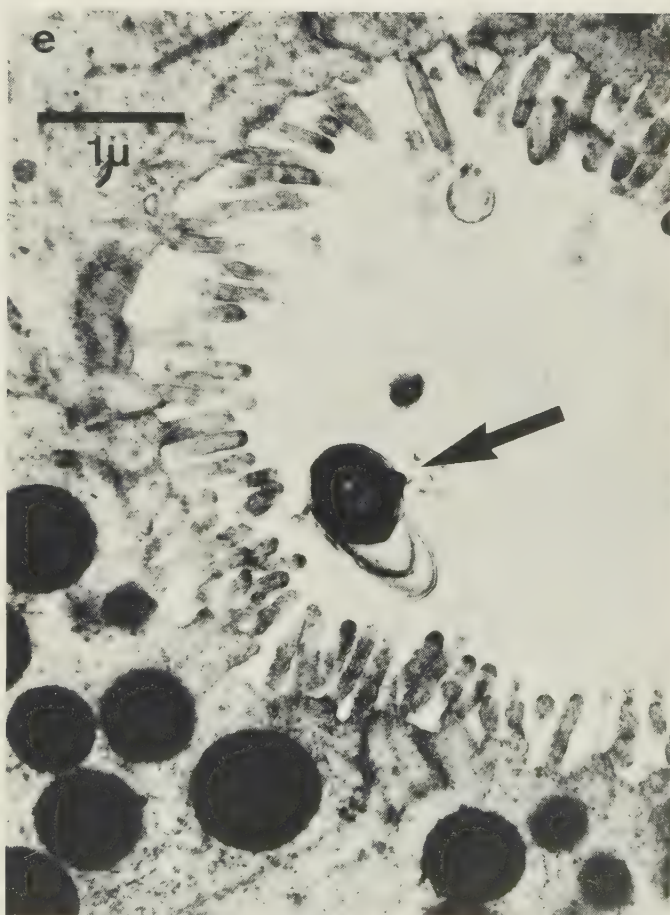
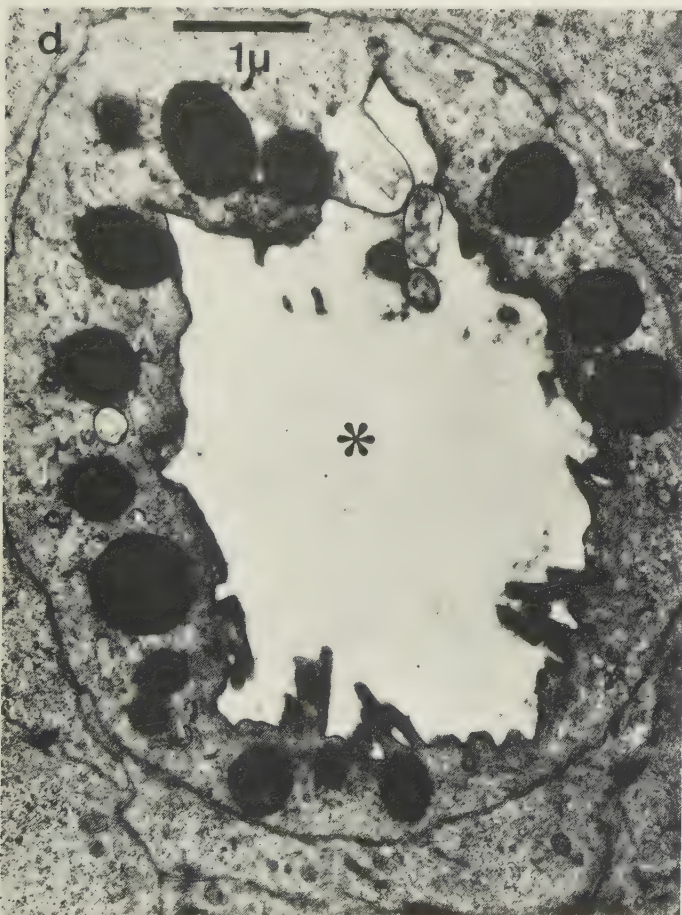
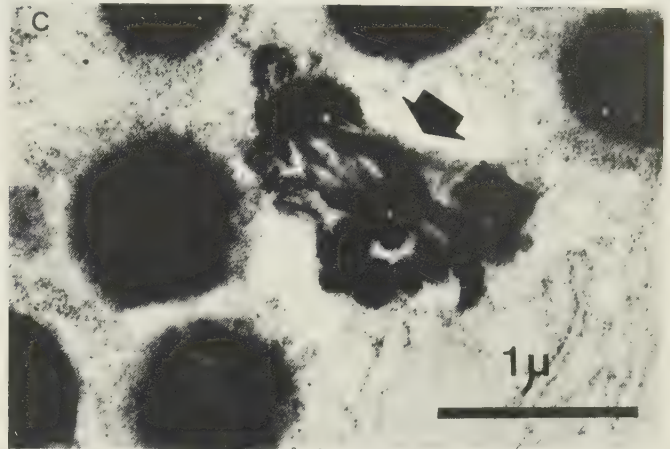
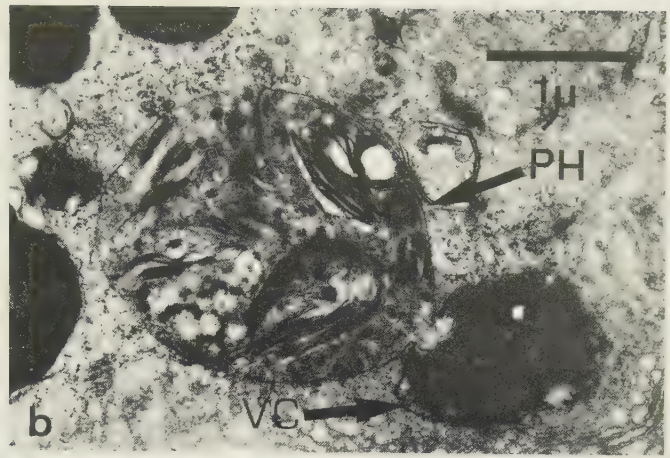
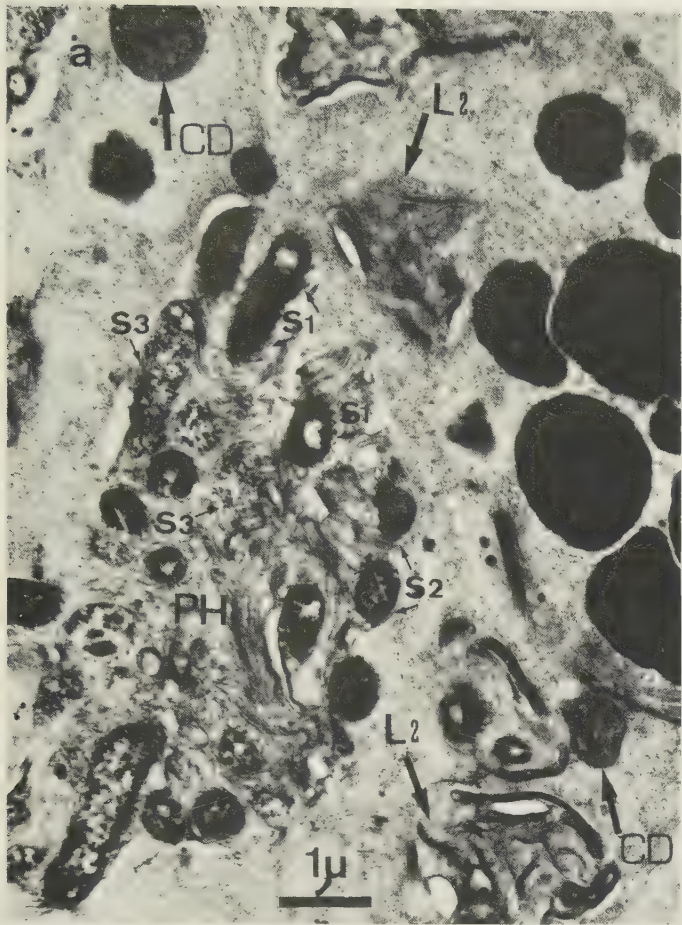


FIGURE 2



CHAPITRE VII

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

Nous avons donc réalisé une étude à la fois morphologique mais également histophysiologique des cellules de Paneth.

Nous tenterons de résumer dans ce dernier chapitre les résultats obtenus durant notre travail en essayant de dissocier les données qui nous paraissent acquises de celles qui ne représentent encore que des hypothèses et des bases prospectives pour des recherches futures.

I - Morphologie de la cellule de Paneth

Nous avons voulu contribuer à une meilleure connaissance anatomique de cet élément cellulaire.

Toujours visualisables dans le jéjuno-iléon les cellules de Paneth sont, suivant les espèces, plus ou moins représentées au niveau du jéjunum ou du duodénum. Le Cobaye fait exception puisque le pourcentage des cellules de Paneth est à son maximum dans les premiers segments du duodénum. Dans son ensemble la structure interne (en microscopie optique ou électronique) de la cellule est identique chez les différentes espèces. Seuls, le nombre, la taille et la structure interne des grains de zymogène présentent quelques variations.

Nous avons particulièrement observé, en microscopie électronique, la cellule de Paneth chez le Hamster, aucune étude dans ce domaine n'ayant été faite chez cet animal. Bien que comparable aux descriptions ultra-structurales chez la Souris, le Rat et l'Homme la cellule de Paneth chez le Hamster en diffère par :

- la structure du grain de zymogène (strictement séreux et dépourvu de halo périphérique).

- la présence d'un système tonofilamentaire et microtubulaire particulièrement développé.

- une dissociation nette entre la zone ergastoplasmique basale, l'étage golgien et la zone d'accumulation zymogénique apexienne.

Le Hamster s'est ainsi révélé être un matériel particulièrement bien adapté à l'étude histophysiologique de la cellule de Paneth.

Nous avons également comparé, par les techniques histochimiques, le contenu granulaire chez le Rat, la Souris et le Hamster. Dans tous les cas il s'agit de glycoprotéines à caractères électropolaires fortement basique. Il n'existe pas, chez le Hamster, d'enveloppe mucopolysaccharidique de la fraction protéique. La présence de cations métalliques et en particulier de zinc est constante (cofacteur enzymatique ?).

La différenciation de la cellule de Paneth est tardive et survient dans les deux premières semaines après la naissance chez la Souris et le Rat. Il en est de même chez le Hamster : la différenciation (dans le sens oral-aboral) apparaît à partir du 10ème jour. Chez l'Homme nous n'avons pas observé la présence de cellules de Paneth au 5ème mois de la vie foetale. Nous sommes, sur ce point, en désaccord avec WHEELER (1964) qui situe l'apparition des cellules de Paneth au 4ème mois de la vie intra-utérine ; mais la qualité de nos prélèvements peut éventuellement expliquer cette discordance.

L'étude morphologique de la cellule de Paneth nous a en outre permis d'acquérir une meilleure connaissance de cet élément, nécessaire pour les études histophysiologiques que nous voulions entreprendre.

II - Etude histophysiologique de la cellule de Paneth

A des fins didactiques, bien que souvent entreprises simultanément les expérimentations ont artificiellement été regroupées selon trois thèmes

principaux :

A. Régulation de la sécrétion des cellules de Paneth au cours des épisodes digestifs.

Nous avons pu mettre en évidence un mécanisme de régulation réflexe contrôlant la sécrétion des cellules de Paneth.

- L'excrétion est accélérée 30 à 45 minutes après l'ingestion d'un repas. Les régimes lipidiques, peut-être également protidiques, semblent représenter le meilleur stimulant.

- L'excrétion réflexe est initiée par la pénétration des métabolites alimentaires dans les premiers segments duodénaux.

- La régulation de la sécrétion est sous la dépendance d'un mécanisme essentiellement hormonal. Un mécanisme vagal coexiste.

L'exocytose des grains de zymogène s'effectue selon le mode mérocrine ; elle présente quelques particularités : comme, au niveau des glandes salivaires, le mécanisme de fusion des membranes zymogéniques provoque un effondrement de l'apex cellulaire. Les phénomènes de reconstruction membranaire ne sont que secondaires au processus d'excrétion.

Nous avons tenté de déterminer l'hormone responsable de la sécrétion des cellules de Paneth. Parmi toutes celles actuellement purifiées seule la cholécystokinine-pancréozymine (CCK-PZ) est active. Mais il ne nous paraît pas certain que le CCK-PZ soit l'hormone réellement spécifique ; en effet :

- la réponse excrétoire est peu importante (comparativement à celle obtenue après réalimentation de l'animal à jeun). Une action stimulante sur la synthèse est par contre intense, mais tardive après l'injection.

- des préparations hormonales moins purifiées et à activité spécifique en sécrétine ou CCK-PZ plus faible, représentent de meilleurs stimulants de l'exocytose ou de la synthèse sécrétoire.

- les doses de CCK-PZ (ou de Caéruléine) utilisées sont très élevées.

Nous sommes enclin à émettre trois hypothèses :

1 - La CCK-PZ n'est pas l'hormone directement active. La stimulation sécrétoire de la cellule de Paneth ne serait alors qu'un effet secondaire (facilitation de la "vidange" des glandes sous l'action de la CCK-PZ sur la motricité des fibres musculaires villositaires ?).

2 - La CCK-PZ est directement active mais, physiologiquement, elle agirait en synergie avec d'autres hormones : la sérotonine, à forte dose, stimule l'excrétion ; la sécrétine provoque une diminution (certes non significative) du taux de charge granulaire des cellules de Paneth.

3 - L'hormone spécifique reste à découvrir (s'agit-il de l'"Enteroocrinine" ?).

Des recherches en ce sens sont actuellement poursuivies pour préciser le mécanisme hormonal. Nous étudions plus particulièrement,

- l'action des hormones gastro-duodénales administrées en perfusion continue

- l'action d'extraits duodénaux à degré de purification variable (parallèlement testés sur la sécrétion pancréatico-biliaire, intestinale et gastrique).

La cellule de Paneth étant soumise à un contrôle réflexe essentiellement hormonal nous avons voulu vérifier l'existence éventuelle de mécanismes d'inter-régulation, en particulier avec la sécrétion pancréatico-biliaire (suggéré par le rôle de la CCK)PZ),

- bien que nous ayons pu envisager l'action éventuelle de la bile, les résultats sont encore trop contradictoires pour conclure.

- par contre il existe des inter-relations avec le pancréas exocrine puisque la ligature des canaux pancréatiques provoque une hypertrophie

(et une hyperplasie plus tardive) des cellules de Paneth. Le suc pancréatique déversé dans la lumière duodénale représenterait un facteur permanent d'inhibition de la sécrétion des cellules de Paneth. Le "balancement" entre la sécrétion des cellules de Paneth et celle du pancréas semble difficile à élucider mais pourrait poser le problème d'une rétroinhibition du "release" de la CCK-PZ par un facteur contenu dans le suc pancréatique.

Enfin, bien que particulièrement bien étudié par AHONEN (1973), nous avons envisagé l'action du système nerveux autonome. Nous avons pu confirmer le rôle stimulant des parasymphicomimétiques sur l'excrétion ; le rôle inhibiteur de l'adrénaline. Un point particulier nous semble intéressant à souligner : les cholinergiques auraient une action élective sur le dispositif micro-tubulaire et micro-filamentaire de la cellule de Paneth.

B. Régulation de la cellule de Paneth en dehors des épisodes digestifs..

Nous avons voulu vérifier l'influence de mécanismes neuro-endocriniens plus généraux.

BAKER et BRIDGMAN (1954) avaient déjà évoqué le rôle essentiel joué par la glande surrénale. Nous avons pu le préciser. Les gluco-corticoïdes possèdent une action "trophique", sur les mécanismes de synthèse protéique (Des études ultérieures, en particulier histoautoradiographiques, devraient permettre de préciser la zone cible aux différentes étapes de la synthèse protéique).

Les catécholamines médullo-surrénaliennes auraient au contraire une action permanente freinatrice sur l'excrétion cellulaire.

Le rôle de la glande thyroïde est plus douteux et nécessiterait de dissocier les effets de la thyroïde de ceux, éventuels, de la parathyroïde.

Nous n'avons pas noté d'action directe des hormones antéhypophysaires.

Par contre il est intéressant de constater, que le taux de charge granulaire des cellules de Paneth varie au cours du nyctémère ; l'éclairement provoquant une diminution du nombre de grains apexiens.

La cellule de Paneth, en dehors même des épisodes digestifs, est donc soumise à une régulation endocrinienne. Nous envisageons ultérieurement d'étendre cette étude aux autres groupes de cellules séreuses de l'appareil digestif.

C. Le rôle fonctionnel des cellules de Paneth dans la digestion intestinale.

Il s'agit là d'un domaine encore énigmatique bien que de nombreux auteurs aient tenté de préciser la nature du contenu zymogénique des cellules de Paneth. Seule la sécrétion du lysozyme intestinal paraît désormais certaine

Nos propres résultats n'apportent guère de précisions supplémentaires. Nous envisageons la possibilité de sécrétion d'une amylase intestinale. Nous sommes surpris par la présence de transférases phosphorylantes. La cellule de Paneth est peut-être responsable de la sécrétion de nombreuses enzymes intestinales en association avec le pool des enzymes du glycocalix des entérocytes.

A notre avis, la mise en évidence de la nature du contenu granulaire dépasse les possibilités actuellement offertes par l'histoenzymologie. Nous comptons beaucoup sur les résultats que devraient apporter les techniques biochimiques après isolement et purification des grains de zymogène.

Enfin, en accord avec ERLANDSEN et CHASE, il faut admettre que la cellule de Paneth possède un rôle phagocytaire. Nous avons retrouvé le phénomène chez la Souris et le Hamster. La phagocytose est probablement favorisée par l'effondrement de l'apex cellulaire survenant au cours de l'exocytose granulaire.

La figure jointe en fin de chapitre résume les points principaux acquis sur les mécanismes de régulation et la fonction des cellules de Paneth.

Au terme de cette étude, deux notions nous paraissent devoir être soulignées :

- L'ensemble des cellules de Paneth représente une glande intestinale diffuse, à l'importance encore partiellement ignorée, mais dont les analogies avec le Pancréas exocrine semblent certaines.

- la poursuite de recherches fondamentales devrait aboutir, dans le futur, à attribuer aux cellules de Paneth un rôle primordial en physiologie et en pathologie digestives.

Schéma récapitulatif des mécanismes probables de régulation de la
sécrétion des cellules de Paneth :

Abréviations :

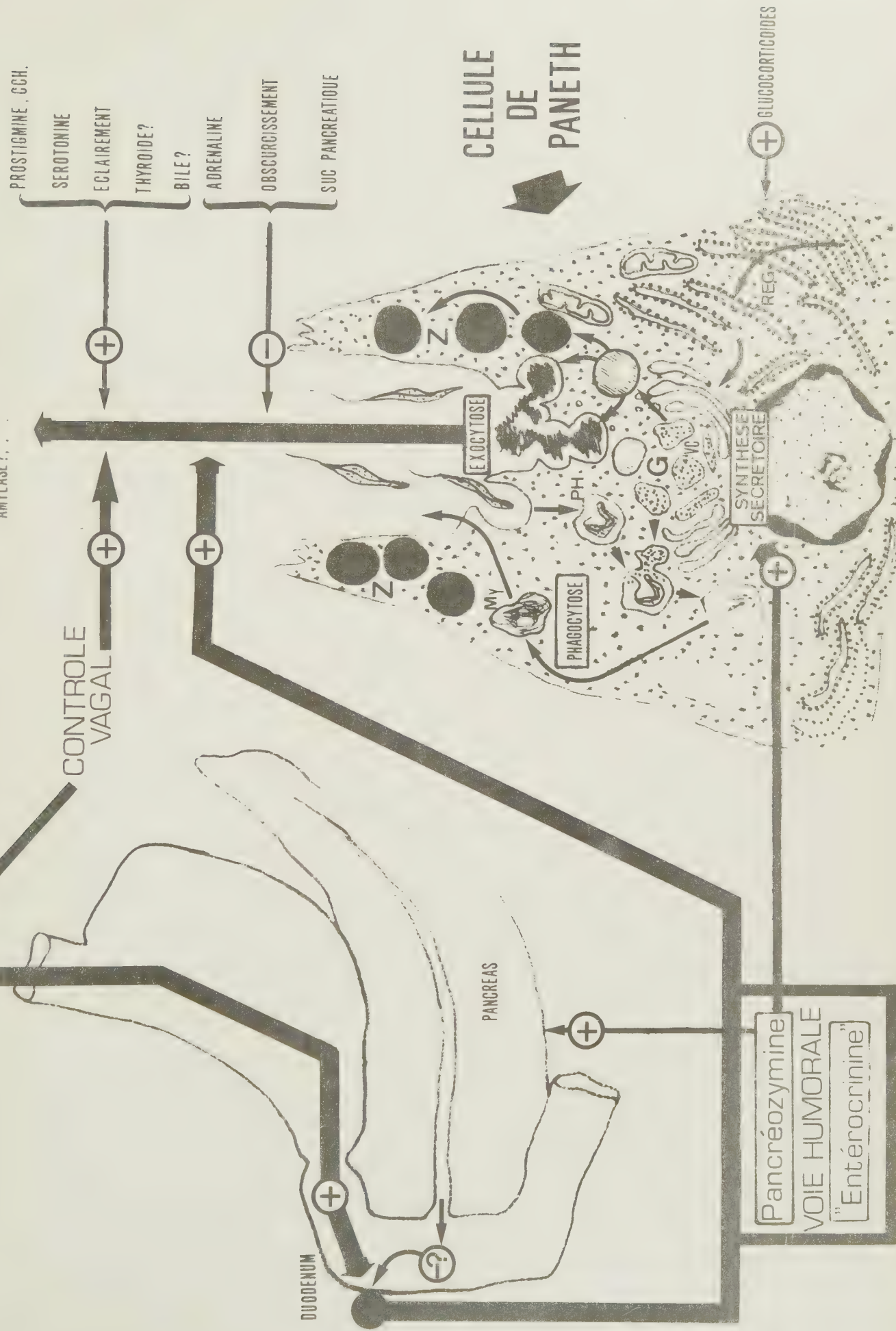
CCH : Carbamyl-choline
G : Appareil de Golgi
My : Corps myelinique
PH : Phagosome
REG : Reticulum endoplasmique granulaire
VC : Vacuoles de condensation
Z : Grains de zymogène.

REALIMENTATION

LIPIDES, PROTIDES

SECRETION

LYSOZYME, PHOSPHORYLASE,
AMYLASE?, ...



CHAPITRE VIII

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1 * AHONEN (A). Effect of pilocarpine on the accumulation of dopamine in the Paneth cells of the mouse, Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1970, 25 suppl. 113, 17.

2 * AHONEN (A), PENTILA (A). Accumulation of catécholamines in the mouse Paneth cells, Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1969, 23, suppl. 108, 34.

3 * AHONEN (A), PENTILA (A). Effect of some drugs on the accumulation of dopamine in the mouse Paneth cells. IX International Congress of Anatomists, Léninegrad, 1970.

4 * AHONEN (A), PENTILA (A). Effects of some drugs on the uptake of monoamines and their precursors in the mouse Paneth cells, Acta Physiol. Scand., 1971, 82, 59-69.

5 * AHONEN (A). Histochemical and electron microscopic observations on the development neural control and fonction of the Paneth cells of the mouse. Aéta Physiologica Scandinavica - Supplementum 398.

6 AMSTERDAM (A), OHAD (I), SHRAMM (M). Dynamic changes in the ultrastructure of the acinar cell of the parotid gland during the sécretory cycle - J. cell. Biol., 1969, 41, 753-773.

7 * BAKER (B.L.), BRIGMAN (R.M.). The histology of gastro-intestinal mucosa (Rat) after adrénalectomy or administration of adrénocortical hormone - J. Anat, 1954, 94, 363-370.

* Parmi les références citées, celles précédées d'une astérisque concernent plus particulièrement l'étude de la cellule de Paneth

8 * BALAS (D). Rôle des glandes surrénales sur la sécrétion des cellules de Paneth, 1970, thèse médecine Toulouse.

9 * BALAS (D). Rôle des glandes surrénales sur la sécrétion des cellules de Paneth du jéjunum de Hamster. Influence des glucocorticoïdes. C.R. Soc. Biol., 1972, 166, n° 2-3, 449-463.

10 * BALAS (D), MIROUZE (P), BROUSSY (J). Rôle des glandes surrénales sur la sécrétion des cellules de Paneth du jéjunum de Hamster - Etude ultrastructurale - C.R. Soc. Biol. 1972, 166, n° 11, 1543-1554.

11 * BALAS (D), BROUSSY (J), SERFATY (A). Influence de la ligature des canaux excréteurs du pancréas sur les cellules de Paneth du jéjunum de Hamster - J. de Physiologie (Paris), 1973, 67, n° 2, 238 A.

12 * BALAS (D), FREXINOS (J), BROUSSY (J), RIBET (A). Action des hormones digestives sur la muqueuse jéjunale et iléale chez la Souris et le Hamster. Etude histophysiologique - Forum de Recherche de Gastro-entérologie Strasbourg 1973 - Biologie gastro-entérologie.

13 * BALAS (D), SENEGAS (F), PRADAYROL (L), FREXINOS (J), RIBET (A). Effects of pancreatic duct ligation on the Hamster jéjunum and morphological and biochemical Study 1974 - VII Meeting of the European Pancréatic Club, Dundee, Scotland - A paraître dans Digestion).

14 * BALAS (D), SENEGAS (F), FREXINOS (J), PRADAYROL (L), BROUSSY (J), RIBET (A). Action des hormones digestives sur la muqueuse jéjunale et iléale chez la Souris et le Hamster - Etude histophysiologique 1974 - Accepté - A paraître dans Biologie - Gastroentérologie.

15 * BALAS (D), BROUSSY (J). Sur un point particulier de l'histophysiologie de l'intestin grêle : les cellules de Paneth - 1974 - IXème congrès de l'association européenne des anatomistes vétérinaires. Anat. Histol. Embryologie, 3, 265-284.

16 * BALAS (D). Les cellules de Paneth : Etude des mécanismes de

régulation de la sécrétion au cours de la réalimentation chez la Souris et le Hamster - 1974 - Arch. Anat. Micr. et Morph. Exp., Sous-presse.

17 * BARRY (J). Contribution à l'étude des cellules de Paneth. C.R. Ass. des Anat., 40ème réunion Bordeaux, 1953, 81, 818-822.

18 * BARRY (J). Recherches sur le chondriome des cellules de Paneth, Arch. d'Anat. Micro., 1953, 42, 274-280.

19 * BEHNKE (O), MOE (H). An electron microscopic study of mature and differentiating Paneth cells in the rat, especially of their endoplasmic reticulum and lysosomes, J. Cell. Biol., 1964, 22, 633-652.

20 * BENSLEY (R.R.). Profesor Prenant's theory of the nature of the granular cells of Paneth - Anat. Rec., 1908, 2, 92-95.

21 * BIGNARDI (C). Histochemie de la cellule de Paneth, Att. Soc. ital. Sc. Nat., 1940, 76.

22 * BOERNER (D), PATZELT (V). Über die Eigenschaften und Bedeutung der Panethschen Körnerzellen in der Tierreche, Zeit. f. Zellforsch und Mikrosk. Anat., 1936, 24, n° 5, 641-661.

23 BONNEVILLE (A), WEINSTOCK (M). Brush border development in the intestinal absorptive cells of xenopus during metamorphosis, J. Cell. Biol., 1970, 44, n° 1, 151-170.

24 * BOTTINO (D), GHIRINGHELLI (F). Contributo alla conoscenza della cellule de Paneth, Rev. Istochim. morm. patol. Ital., 1960, 6, n° 34, 277-280.

25 * BOWER (D), GHADWIN (C.G.). Demonstration of Paneth cell granules using Naphtalene black, J. Clin. Path., 1968, 21, 107.

26 * BROUSSY (J), BARRY (J). Les cellules à granulations acidophiles de l'intestin. Essai sur les caractéristiques et la signification des cellules de Paneth. J. Med. Lyon 1944, n° de janvier, 19-29.

- 27 * BROWNING (T.H.), TRIER (J.S.). Organ culture of mucosal biopsies of human small intestine, J. Clin. Invest., 1969, 48, 1423-1432.
- 28 * BURNS (J), WHITEHEAD (R). Staining of Paneth cells with thioflavine T, Nature, 1966, 212, 769-771.
- 29 CANGUILHEM (B), PETROVIC (A). Activity of adrenal cortex homotransplanted in testes of Adrenalectomized Hamsters, Hormones, 1971, 2, 321-326.
- 30 CAPELLA (C), SOLCIA (E), VASSALLO (G). Identification of six types of endocrine cells in the gastro-intestinal mucosa of the Rabbit, Arch. Histol. Jap., 1969, 30, 479-495.
- 31 CAPELLA (C), SOLCIA (E). The endocrine cells of the pig gastro-intestinal mucosa and pancréas, Arch. Histol. Jap., 1972, 35, 1-29.
- 32 CAPELLA (C), SOLCIA (E), VASSALO (G). Ultrastructural and histochemical investigations on the endocrine cells of intestinal mucosa, Endocrinology Proceedings of the third International Symposium, London, 19-22 July - William Heineman Medical Book London, 1972, 282-290.
- 33 CATALA (J). Quelques modifications nutritionnelles et digestives consécutives à la suppression de la sécrétion pancréatique exocrine chez le lapin. Thèse de spécialité ès Sciences Toulouse 1972.
- 34 CAYRAC (J.C.), PRATZ (A), BALAS (D). Techniques de fixation et d'inclusion rapides pour la microscopie électronique, J. de microscopie, 1973, 18, n° 3, 401-406.
- 35 CHANG (W). Renewal of the epithélium in the descending colon of the Mouse.III. Diurnal variation in the proliferative activity of epithelial cells, Am. J. Anat., 1971, 131, 111-119.
- 36 * CHENG (H), MERZEL (J), LEBLOND (A). Renewal of Paneth cells in the small intestine of the mouse, Am. J. Anat., 1969, 126, 507-525.

37 * CORDIER (R). Contribution à l'étude de la cellule de Ciaccio-Masson et de la cellule de Paneth. C.R. Soc. Biol., 1923, 88, 1227-1230.

38 COULTER H.D.. Rapid and improved méthodes for embedding biological tissues in Epon 812 and Araldite 502. J. Ultrastructure Res., 1967, 20, 346-355.

39 COUTURE (Y), MONCEAU (R), DUNIGAN (J), MORISSET (J). Evidence that protein synthesis can be increase in vitro following cholinergie Stimulation, Can. J. Physiol. Pharmacol., 1972, 50, 874-882.

40 COX (R.F.), MATHIAS (A.P.). Cytoplasmic effects of cortisol in liver - Biochem. J., 1969, 115, 777-787.

41 * CREAMER (B), PINK (I.J.). Paneth-cell deficiency, Lancet, 1967, 1, 304-306.

42 * CREAMER (B). Paneth-cell function. Lancet, 1967, 1, 314-316.

43 * DALTON (A.J.). Electron micrography of epithelial cells of the gastro-intestinal tracts and pancréas, Am. J. Anat., 1951, 89, 109-133. DAHL (E) The fine structure of nuclear inclusions, J. Anat., 1970, 106, 2, 255-262.

44 * DECASTRO (M), SASSO (W.D.), SAAD (F.A.). Preliminary observations of the Paneth cells of the Tamandua tetractyla, Acta Anat., 1952, 38, 345-352.

45 * DECKX (R.J.), VANTRAPPEN (G.R.), PAREIN (M.M.). Localization of lysozyme activity in a Paneth cell granule fraction, Biochem. Biophys. Acta, 1967, 139-, 204-207.

46 * DESCHNER (E.E.) Observations on the Paneth cell in human ileum Exp. Cell. Res., 1967, 47, 624-628.

47 * DEVILLER. Contribution à l'étude de la cellule de Paneth de l'intestin humain. Thèse médecine Lyon n° 293 - 1920.

- 48 DRAPANAS (T), POLLACK (E.L.), SHIM (W.K.I.). Regulation of pancreatic sécrétion by serotonin, Arch. surg. 1961, 83, 462-469.
- 49 EDWARDS (P), MUROYA (H), GOULD (R). In vitro demonstration of the circadian Rhythm of cholesterol biosynthesis in the Liver and Intestine of the Rat. J. Lipid. Res., 1972, 13, 396-401.
- 50 ENERBACK (L), HAGGENDAL (J). Uptake and storage of catecholamines in mucosal mast cells of the Rat, J. Histochem. Cytochem., 1970, 18, 803-811.
- 51 ERANKO (O). The pratical histochemical demonstration of catecholamines by formal-dehyde induced fluorescence, J. Roy. Micr. Soc., 1967, 87, 259-276.
- 52 * ERLANDSEN (S.L.), CHASE (D.G.). Paneth cell function : Phagocytosis and intra-cellular digestion of intestinal micro-organismes, I. Hexamita muris, J. Ultrastruct. Res., 1972, a 41, 296-318.
- 53 * ERLANDSEN (S.L.), CHASE (D.G.). Paneth cell function : Phagocytosis and intra-cellular digestion of intestinal micro-organisms, II. J. Ultrastruct. Res. 1972, b. 41, 319-333.
- 54 FORSSMANN (W.G.), ORCI (L). Ultra structure and secretory cycle of the gastrin producing cell. Z. Zellforsch, 1969, 101, 419-432.
- 55 FORSSMANN (W.G.). Ultrastructure of hormone - producing cells of the upper gastro-intestinal tract in origin, chemistry, Physiology and Pathophysiology of the gastro-intestinal hormones - Edited by W.G. CREUTZFELDT, Schattauer, Verlag, Stuttgart, New-York, 1970, 31-70.
- 56 * FRASCHINI (A). Primi dati per un quadro comparativo della cellule di Paneth nei pesci, Ist. Combaro, R.C., B, 1967, 101, n° 3, 430-434.
- 57 FREXINOS (J), BALAS (D), RIBET (A). Les cellules endocrines de la muqueuse duodénale chez l'Homme, Biol. gastroenterol (Paris), 1973, 6, 107-117.

- 58 FREXINOS (J), BOUCARD (J.P.), AUGIER (D), RIBET (A). Etude ultrastructurale du pancréas exocrine du chien après stimulation par la pancréozymine, Biol. Gastro-entérol (Paris), 1970, 1, 13-26.
- 59 FRIEND (D), FARQUHAR (M.F.). Functions of coated vesicles during protein absorption in the Rat vas deferens, J. cell. Biol., 1967, 35, 357-364.
- 60 FRY (R.J.M.), STAFFELDT (E). Effect of a diet containing sodium deoxycholate on the intestinal mucosa of the mouse, Nature (Lond.), 1964, 203, 1396-1398.
- 61 FURUYA (S), YUGARI (Y). Daily Rhythmic change in the transport of Histidine by everted sacs of Rat small intestine, Biochem. Biophys. Acta (Amst.) 1971, 241, 245-248.
- 62 GABE (M), MARTOJA. 1957 - In : Le trichrome en un temps de GABE et MARTOJA in : techniques histologiques, 1968, Masson et Cie, Editeurs, Paris, 230-232.
- 63 GANTER (P), JOLLES (G), Histochemie normale et pathologique Tome II - Gauthier, Villars, Edit., Paris, 1969.
- 64 GARREN (L.D.), RICHARDSON Jr (A.P.), CROCCO (R.M.). Studies on the role of ribosomes in the regulation of protein synthesis in hypophysectomized and thyroidectomized rats, J. Biol. Chem., 1967, 242, 650-656.
- 65 GEISELMAN (C.W.), BURKE (C.N.). Exact anhydride : epoxy percentages for Araldite and Araldite-Epon embedding. J. Ultrastructure Res. 1973, 43, 220-227.
- 66 GENT (A.E.), CREAMER (B). Paneth cell secretion, Digestion, 1973, 7, 1-12.
- 67 * GEYER (G) von). Eine histochemische Methode zur differenzier-ten Darstellung von Kohlenhydrat und Protein Bestandteilen in den Prosecret-granula Panethschen Körnzellen der Maus, Acat Histochemica, 1966, 25, 55-57.

68 * GEYER (G), LINSS (W). Histochemie und Feinstruktur der Prosecretgranula in den Panethschen Zellen der Maus, *Naturwissenschaften*, 1965, 52, 14-15.

69 * GHOOS (Y), VANTRAPPEN (G). The cytochemical localization of lysozyme in Paneth cell granules, *Histochem. J.*, 1971, 3, 175-178.

70 GRACEY (M), PAPADIMITRIOU (J), BURKE (V), THOMAS (J), BOWER (G). Effects on small intestine function and structure induce by feeding a deconjugated bile salt, *GUT*, 1973, 14, 519-528.

71 HAKANSON (R), OWMAN (Ch), SUNDLER (F). O-phthalaldehyde (OPT) A sensitive detection reagent for glucagon, secretin and VIP (vasoactive intestinal peptide), *J. Histochem. Cytochem.*, 1972, 20, 138-140.

72 * HALBHUBER (K.J.), STIBENZ (H.J.), HALBHUBER (U). Autoradiographische Untersuchungen über die Verteilung einiger Metalisotopen im Darm von Laboratoriumstieren. Ein Beitrag zur Ausscheidungsfunktion der Panethschen Körnzellen, *Acta Histochemica*, 1970, 35, 307-319.

73 * HALBHUBER (K.J. von) STIBENZ (H.J.), GEYER (G). Autoradiographische Untersuchungen über die Synthese des Prosekrets in den Panethschen Körnzellen des Dünndarms der albinomaus, *Acta Histochemica*, 1972, 42, 143-156.

74 * HALLY (A.D.). The fine structure of the Paneth cell, *J. Anat.*, 1958, 92, 268-277.

75 HECHTER (O), HALKERSTON (I.D.K.). Effects of steroid hormones on gene regulation and cell metabolism, *Ann. Rev. Physiol.*, 1965, 27, 133-162.

76 HERS (H.G.) DE WULF (H), STALMANS (W), VAN DER BERGHE (G). The control of glycogen synthesis in the liver. In "Advances in enzyme regulation" vol 8, p. 171-190 - G. WEBER edit., Pergamon Press, Oxford - N.Y. - 1970

77 * HERTZOG (A.J.). The Paneth cell, *Am. J. of Path.*, 1937, 351-360.

78 HUGON (J.S.), BORGERS (M). Ultrastructural localization of alkaline phosphatase activity in the absorbing cells of the duodenum of mouse, J. Histochem. Cytochem., 1966, 14, 629-640.

79 HUGON (J.S.), CHARUEK (C1.), LAURENDEAU (D). Circadian rhythm of alkaline phosphatase activity in the Golgi zone of mouse duodenal enterocytes, Histochemie, 1973, 35, 263-272.

80 * KLEIN (S). On the nature of the granule cells of Paneth in the intestinal glands of mammals. Amer. J. Anat., 1906, 5, 315-330.

81 KORNER (A). Ribonucleic acid and hormonal control of protein synthesis, Progr. Biophys. Mol. Biol., 1967, 17, 63-98.

82 * KRAUSE (W.J.). Paneth cells of the Echidna (Tachyglossus aculeatus), Acta Anatomica, 1971, vol. 80, n° 3, 435-448.

83 KRAUSE (R.L.), SOKOLOFF (L). Effects of thyroxine on initiation and completion of protein chains of hemoglobin, J. Biol. chem., 1967, 242, 1431-1438.

84 * KUROSUMI (K). Electron microscopic analysis of the secretion mechanism, Internat. Rev. Cytol., 1961, 11, 1-22.

85 * LAUMONIER (R), METAYER (J). La cellule intestinale de Paneth normale et pathologique. La presse médicale, 1967, 75, n° 9, 429-434.

86 * LAUREN (P), SORVARI (T.E.). Staining of Paneth cells with Best's carmine after metylation, Stain. Technol., 1967, 42, 311-315.

87 * LEBLOND (C.P.). Distribution of periodic acid-reactive carbohydrates in the adult rat, Am. J. Anat., 1950, 86, 1.

88 LEFRANC (G), PRADAL (G). Les cellules endocrines des muqueuses digestives, Bulletin de l'Association des anatomistes - 56ème Congrès (Nantes, 4-8 Avril 1971) n° 150.

- 89 * LEWIN (K). Histochemical observations on Paneth cells, J. Anat. 1969, 105, 1, 171-176.
- 90 * LEWIN (K). The Paneth cell in health and disease, Ann. roy. Coll. surg. Engl., 1969, 41, 23-27.
- 91 LINDBERG (L.A.), PALKAMA (A). The effect of some factors on the histochemical demonstration of liver glycogen phosphorylase activity, the J. of histochem. and cytochem., 1972, 20, n° 5, 331-335.
- 92 LOUVARD (D), MAROUX (S), BARATTI (J), DESNUELLE (P). On the distribution of enterokinase in porcine intestine and on its Subcellular localization, Biochimica et Biophysica Acta, 1973, 309, 127-137.
- 93 LOW BEER (T.S.), SCHNEIDER (R.E.), DOBBIN (W.O.). Morphological changes of the small intestinal mucosa of guinea - pig and Hamster following incubation in vitro and perfusion in vivo with unconjugated bile salts, GUT, 1970, 11, 486-492.
- 94 MALLORY-CASSON (1950). In techniques histologiques (GABE-1968), Masson et Cie édit., Paris - p. 225.
- 95 * MERZEL (J). Some histophysiological aspects of Paneth's cells of mice as shown by histochemical and radioautographic studies, Acta Anatomica 1967, 66, 603-630.
- 96 * MIRAM (K). Zur frage über die bedeutung der Panethschen Zellen, Arch. Mikro. Anat., 1972, 79, 105-113.
- 97 * MOE (H). The goblet Cells, Paneth cells and Basal granular Cells of the Epithelium of the Intestine, Int. Rev. of general and Experimental zoolog., 1968, 3, 241-287.
- 98 MOLLENHAUER (H.H.). Plastic embedding mixtures for electron microscopy, Stain Technol., 1964, 39, 111-114.
- 99 * MOLS (G). Recherches cytologiques et experimentales sur les

cellules de Paneth (Souris) Arch. Biol. (Liège), 1930, 40, 111-150.

100 MUTT (V). Ark. Kemi., 1959, 15, 69-74.

101 NAKAGAWA (H), KIM (K.H.), COHEN (P.P.). Studies on ribonucleic acid synthesis in tadpole liver during metamorphosis induced by the thyroxine, I.J. Biol. Chem., 1967, 242, 635-641.

102 NAKAGAWA (H), COHEN (P.P.). Studies on ribonucleic acid synthesis in tadpole liver during metamorphosis induced by thyroxine, II. J. Biol. Chem., 1967, 242, 642-649.

103 * OHNO (Y). On the secretory function of the Paneth's cells of albino rats (résumé en anglais, texte en japonais), Kaibogaku Zasshi, 1950, 25, 10-22.

104 O'MALLEY (B.W.). Hormonal regulation of nucleic acid and protein synthesis, Trans. N.Y. Acad. Sci., 1969, 31, 478-503.

105 OTTO (H.F.), FETT (R). Zur Orthologie und Pathologie Panethschen Körnzellen, Virchows arch. Abt. A. Path. Anat., 1972, 356, 187-206.

106 * OTTO (H.F.), WEITZ (H). Electromicroscopische Untersuchung an Paneth Zellen der Ratte unter Zincarmer Diät. Beitr. Path., 1972, 145, 336-349.

107 PALADE (G.E.). In Subcellular Particles. T. Hayashi editor. The Ronald Press Company, New-York, 1959, 64-70.

108 * PANETH (J). Ueber die secernirenden Zellen des Dünndarm - Epithels, Arch. Mikro. Anat., 1888, 31, 113-191.

109 * PARAT (M). Contribution à l'histophysiologie des organes digestif de l'embryon. L'apparition des cellules de Paneth chez le foetus humain, C.R. de l'association des Anatomistes, 18ème réunion (Lyon - 26-28 mars 1923), p. 423- 426.

- 110 * PATERSON (J.C.), WATSON (S.H.). Paneth cell métaplasia in ulcerative colitis, Am. J. of Path., 1961, 38, n° 2, 243-249.
- 111 * PATZELT (V). Die oxyphilen Panethschen koïnchenzellen - in "Der Darm", Handbuch der mikroskopischen Anatomie, 1936, 3, 120 - 137, Julius Springer, Berlin.
- 112 PEARSE (A.G.E.). The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone producing cell of the APUD series and the embryologic physiologic and Pathologic implications of the concept, J. Histochem. Cytochem., 1969, 17, 303-313.
- 113 PEARSE (A.G.E.), POLAK (J.M.). Cytochemical evidence for neural crest origin of mammalian ultimobranchial C cells, Histochemic, 1971, 27, 96-102.
- 114 * PEETERS (T), VAN TRAPPEN (G). Study of Paneth cell secretion using lysozyme as a marker, gastro-enterology, 1974, 66, n° 4, A 104/758.
- 115 * PENTILA (A), AHONEN (A). Binding of 1-3, 4- dihydroxyphenylalanine and dopamine in cytoplasmic granules of Paneth cells, Experientia, 1969, 25, 70-72.
- 116 PETROVIC (A). Culture organotypique et homogreffon intratesticulaire de fragments du cortex surrénal chez le cobaye. C.R. Soc. Biol., 1960, 154, 1077-1079.
- 117 * PITHA (J). The fine structure of membranous inclusions in the Paneth cells of rabbit, Z. Zellforsch, 1968, 90, 563-569.
- 118 * POLICARD (A). Documents concernant la cellule de Paneth de l'intestin chez l'Homme, C.R. Soc. Biol., 1920, 83, 866-866.
- 119 * PRENANT (A). Sur les "cellules de Paneth" dans les glandes de Lieberkühn de l'Homme, C.R. Soc. Biol., 1907, 62, 1125-1128.
- 120 * RECKNAGEL (I. von), GEYER (G), HALBHUBER (K.J.). Quantita-

tive Untersuchungen über die Entwicklung der Paneth, Zell-Population im Dünndarm der Maus bei ausschliesslicher Milchernährung, Anat., 1972, 132, 523-529.

121 * RIECKEN (E.O.), PEARSE (A.G.E.). Histochemical study on the Paneth cell in the rat, GUT, 1966, 7, 86-93.

122 ROSENBLUTH (J.), WISSIG (S.L.). The distribution of exogenous ferritin in toad spinal ganglia and the mechanism of its uptake by neurone, J. Cell. Biol. 1964, 23, 307.

123 * SCHAAF (P. von), WENZEL (U.D.). Über Vorkommen und Histochemische Klassifizierung von Panethschen Körnzellen bei einigen Säugerspezies, Anat. Anz., 1970, 126-, 527-530.

124 SCHEWING (L.), BURNS (E.), PAULY (J.). Circadian Rhythms in mitotic Activity and ³H-thymidine uptake in the duodenum. Effect of isoproterenol on the mitotic rhythm, Am. J. Anat., 1972, 135, 311-318.

125 * SCHWALBE (G.). Beiträge zur Kenntniss der Drüsen in den Darmwandungen, insbesondere der Brunnerschen Drüsen. Arch. Mikro. Anat., 1872, 8, 92-139.

126 * SELZMAN (H.M.), LIEBELT (R.A.). A cytochemical analysis of Paneth cell secretion in the mouse, Anat. Rec., 1961, 140, 17-22.

127 * SELZMAN (H.M.), LIEBELT (R.A.). Paneth cell granule of mouse intestine, J. Cell. Biol. 1962, a. 15, 136-139.

128 * SELZMAN (H.M.), LIEBELT (R.A.). Localization of sulphhydryl and disulphide groups of protein in the Paneth cell secretion of the mouse intestine, J. Histochem. Cytochem., 1962, b 10, 106.

129 SHEFER (S.), HAUSER (S.), LAPAR (V.), MOSBACH (E.). Diurnal variation of HMG CoA reductase activity in rat intestine, J. Lipid Res., 1972, 13, 571-573.

130 SHINER (M.). Effect of bile acids on the small intestinal

mucosa in man and rats : a light and electron microscopic study. In Bile Salt Metabolism edited by L. SCHIFF, J.B. CAREY and J. DIETSCHY (conférence, Cincinnati, 1967) p. 41-45, Thomas, Springfield, Illinois.

131 SIGDESTAD (C), BAUMAN (J), LESHER (S). Diurnal fluctuations in the number of cell in mitosis and D.N.A. Synthesis in the jejunum of the mouse, Exp. cell. Res., 1968, 58, 159-162.

132 SIGDESTAD (C), LESHER (S). Photo-reversal of the circadian rhythm in the proliferative activity of the mouse small intestine. J. Cell. Physiol., 1971), 78, 121-125.

133 SMITH (R.J.), FROMMER (J). Amylase localization in Hamster Submandibular glands, J. Dent. Res., 1973, 52, n° 2, 395.

134 SOLCIA (E), VASSALO (G), CAPELLA (C). Cytology and cytochemistry of hormone producing cells of the upper gastro-intestinal tract. In : Origin, Chemistry, Physiology and Pathophysiology of the gastro-intestinal hormones. Edited by W. CREUTZFELD, Schattauer, Verlag, Stuttgart, New-York, 1970, 3-19.

135 SOULAIRAC (A), CAHN (J), SOULAIRAC (M.L.). In : Mécanismes d'actions intracellulaires des Hormones R. VOKAER, 1970, Masson et Cie, Editeurs, Paris, 243-263.

136 * SPERSCHNEIDER (H. von), GEYER (G), HALBHUBER (K.J.). Autoradiographische Untersuchungen über die Entwicklung von Panethschen Zellen im Dünndarm der Maus. Acta Histochemica. 1972, 44, 196-202.

137 SPURR (A.R.). A low-viscosity electron microscopy resin embedding medium for electron microscopy, J. ultrastructure Res., 1969, 26, 31-43.

138 * STANLEY (M.W.), TRIER (J.S.). Morphologic heterogeneity of mouse cell granules before and after secretory stimulation, Amer. J. Anat., 1965, 117, 365-383.

- 139 SYMONS (A.M.), LEWIS (D.A.), ANCILL (R.J.). Stabilizing action of anti-inflammatory steroid on lysosomes. *Biochem. Pharm.*, 1969, 18, 2581-2584.
- 140 TAKEUCHI (T), KURIAKI (H). Histochemical detection of phosphorylase in animal tissues, *J. Histochem. Cytochem.*, 1955, 3, 153-160.
- 141 TATA (J.R.), ERNSTER (L), LINDBERG (O), ARRHENIUS (E), PETERSEN (S), HEDMAN (R). The action of thyroid hormones at the cell level- *Biochem. J.*, 1963, 86, 408-428.
- 142 TATA (J.R.). Thyroid hormones and regulation of protein synthesis, In KARLSON (P) (edit.) : Mechanisms of hormone action -Academic Press, N.Y., 1965, 173-191.
- 143 TATA (J.R.). The formation and distribution of ribosomes during hormone induced growth and development, *Biochem. J.*, 1967, 104, 1-15.
- 144 TATA (J.R.). Hormonal regulation of growth and protein synthesis. *Nature*, 1968, 219, 331-337.
- 145 * TAYLOR (J.J.), FLAA (R.C.). Histochemical analysis of Paneth cell granules in rats, *Arch. Path.*, 1964, 77, 278-285.
- 146 TISCORNIA (O.M.), DREILING (D.A.). Does the pancreatic gland regenerate ? *gastroenterology*, 1966, 51, n° 2, 267-271.
- 147 * TONER (P.G.). Cytology of intestinal epithelial cells, *Internat. Rev. Cytol.* 1968, 24, 233-343.
- 148 * TRIER (J.S.). Studies on small intestinal crypt epithelium. I. The fine structure of the crypt epithelium of the proximal small intestine of fasting humans. *J. Cell. Biol.*, 1963, 18, 599-620.
- 149 * TRIER (J.S.), LORENZSON (V), GROEHLER (K). Pattern of secretion of Paneth cells of the small intestine of mice, *Gastroenterology*, 1967, 53, 240-9.

150 * TROUGHTON (W.D.), TRIER (J.S.). Paneth and goblet cell renewal in mouse duodenal crypts J. Cell Biol., 1969, 41, 251-267.

151 * VAN GENDEREN (H), ENGEL (C). On the distribution of some enzymes in the duodenum and the ileon of the rat, Enzymologia, 1938; 5, 71-80.

152 VASSALO (G), SOLCIA (E), CAPELLA (C). Light and electron microscopic identification of several types of endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the rat, Z. Zell-forsch, Mikrosk. Anat., 1969, 98, 333-356.

153 VASSALO (G), CAPELLA (C), SOLCIA (E). Endocrine cells of the human gastric mucosa Z. Zellforsch, Mikrosk. Anat., 1971, 118, 46-67.

154 VEILLEUX (R), CANTIN (M). Cytofluorescence of globule leucocytes and mast cells in the urinary bladder of magnesium deficient rats : visualisation of acid mucopolysaccharide, histamine and serotonin., Rev. Can. Biol., 1972, 31, 287-292.

155 VEILLEUX (R). Staining properties of duodenal mast cells in 48/80 treated rats, 1973, 34, 157-161.

156 VENABLE(J), COGGESHALL (R). A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy, J. cell. Biol., 1965, 25, 407.

157 WEISSMAN (G), THOMAS (L). Studies on lysosomes. II. The effect of cortisone on the release of acid hydrolases from a large granule fraction of rabbit liver induced by an excess of vitamin A, J. Clin. Invest., 1963, 42, 661-669.

158 * WHEELER (E.J.), WHEELER (J.K.). Comparative study of Paneth cells in vertebrates, Anat. Record., 1964, 148, 350-358.

159 * WINDISCH (M.C.). Etude morphologique des cellules de Paneth dans diverses conditions physiologiques, Rev. Can. Biol. 1966, 25 n° 3, 167-177.

160 WYATT (G.R.), TATA (J.R.). The hybridization capacity of ribonucleic acid produced during hormone action - Biochem. J., 1968, 109, 253-257.

ERRATUM :

FALCK (B). Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method. Acta, Physiol. Scand., 1962, 56, Suppl. 197, 1-25.

GEYER (G), STIBENZ (A). Histochemical evidence of a hormonal stimulation effectinf the posnatal development of murine Paneth cells. Acta histochemica - 1974, Vol. 48, n° 1, 152-155.

Dépot légal 1^{er} trimestre 1975

SERVICE DE REPROGRAPHIE
ACADÉMIE DE TOULOUSE
3, RUE ROQUELAINE
31069 TOULOUSE CEDEX
